

岡山県環境保健センター年報  
第 47 号  
(令和4年度)

Annual Report  
of  
Okayama Prefectural Institute  
for Environmental Science and Public Health

No.47

2023



# ま え が き

岡山県環境保健センターは、県民の生活環境の保全及び健康の保持増進に資するため、昭和51（1976）年4月に、旧公害防止センターと旧衛生研究所を発展的に統合して設置されました。環境保全及び保健衛生に関する調査研究、試験検査、研修指導及び情報の提供等を行い、県民の安全・安心を科学的・技術的側面から保障する総合的な試験研究機関としての役割を担っております。

令和4年度は、令和3年度に引き続き、新型コロナウイルス感染症の流行が社会全体の大きな問題となりました。オミクロン株BA.5系統への置き換わりに伴い、感染が急拡大した第7波では、4,000人／日を超える大規模な感染が続き、市中感染がまん延したことから、県では8月5日に「BA.5対策強化宣言」を発出し、県民・事業所等への感染対策の呼びかけや医療提供体制の確保等に努めました。当センターにおいては、変異株を中心とした検査やゲノム解析による流行状況の把握や、感染症情報センターの週報を通じた周知等、現有の機能を最大限に活用し、対応に努めてきたところです。

本年報においては、令和4年度から3か年計画で取り組んでいる調査研究の成果のほか、試験検査や監視測定から得られた情報を取りまとめて掲載いたしました。特に調査研究は当センターの主要な業務として、外部の有識者の御意見を踏まえながら行政ニーズや県民ニーズに沿った課題を選定しており、例えば、岡山県におけるPM2.5高濃度事象に関する研究やテングタケに含まれる毒成分のLC-MS/MSを用いた一斉分析法の検討といった各科の専門性を活かした課題に取り組んでまいりました。

御高覧いただき、御意見をお寄せいただきましたならば幸いです。今後とも、当センターの活動につきまして、より一層の御支援を賜りますようお願いいたします。

令和6年3月

岡山県環境保健センター

所 長 望 月 靖



# 目 次

## 調査研究・資料

### 大気科

#### 【資 料】

- 1 岡山県におけるPM2.5高濃度事象の要因について  
小川知也, 野村 茂, 大月史彦, 畝山善光, 森 寛史 ..... 1

#### 【調査研究】

- 2 岡山県におけるPM2.5高濃度事象に関する研究  
小川知也, 野村 茂, 大月史彦, 畝山善光, 森 寛史 ..... 5

### 水質科

#### 【資 料】

- 3 GC-MSによる医薬品・生活関連物質（PPCPs）一斉分析法の検討について  
吉岡敏行, 橋本清美, 小林隆太 ..... 9
- 4 児島湖の水質改善に向けた難分解性有機物等の実態把握に関する研究（第1報）  
喜多真帆, 北村雅美, 沖 拓哉, 林ひかる, 坂口浩範 ..... 15

### 放射能科

#### 【資 料】

- 5 人形峠周辺の環境放射線等測定に係る補完調査－松葉－（第2報）  
中野拓也, 小川 登, 信森達也, 徳田 亨, 森上嘉亮 ..... 19

### 細菌科

#### 【資 料】

- 6 岡山県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向調査（令和4年度）  
岡田達郎, 梶原知博, 河合央博 ..... 25
- 7 結核菌DNA解析調査事業報告（令和元年度～3年度）  
梶原知博, 岡田達郎, 河合央博 ..... 31

### ウイルス科

#### 【資 料】

- 8 岡山県におけるSARS-CoV-2の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析調査（2022-2023）  
土本祐栄, 岡本尚子, 石井 学, 池田和美, 船橋圭輔, 濱野雅子, 平田真弓, 鶴海 剛,  
木田浩司, 木下浩行 ..... 37

### 衛生化学科

#### 【調査研究】

- 9 遺伝子組換えダイズ混入の判定に係る検査法の導入に関する検討  
金子英史, 難波順子, 佐藤 淳, 藤本佳恵, 繁田典子 ..... 43
- 10 LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中のテトラサイクリン系抗生物質に関する一斉分析法の検討  
難波順子, 藤本佳恵, 金子英史, 佐藤 淳, 浦山豊弘, 繁田典子 ..... 49

**【資料】**

11 テングタケに含まれるムシモール及びイボテン酸のLC-MS/MSを用いた一斉分析法の検討  
難波順子, 藤本佳恵, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子 ..... 57

**感染症情報センター**

**【資料】**

12 岡山県における感染症の患者発生状況について (2022年)  
木下浩行, 北村雅美, 林 隆義, 望月 靖 ..... 63

13 岡山県における新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の発生状況について (2022年)  
木下浩行, 北村雅美, 林 隆義, 望月 靖 ..... 83

他誌発表論文抄録 ..... 89

報告書等 ..... 90

学会発表 ..... 92

【資料】

## 岡山県におけるPM2.5高濃度事象の要因について

Analysis on Factors of High Concentration Events of PM2.5  
in Okayama Prefecture

小川知也, 野村 茂, 大月史彦, 畝山善光, 森 寛史

OGAWA Tomoya, NOMURA Shigeru, OTSUKI Fumihiko, UNEYAMA Yoshihiro, MORI Hiroshi

### 要 旨

岡山県におけるPM2.5の環境基準達成率は令和3年度に初めて100%を達成したものの、令和2年度までは全国に比べて低位で推移している。令和2～3年度における大気汚染状況の常時監視結果を取りまとめたところ、県南の田園地帯及びその周辺では、11月に野焼きによってPM2.5濃度が上昇していることが示唆された。また、文献調査から令和2年度の8月は小笠原諸島西之島の噴煙、令和3年度の3月は黄砂や越境汚染の影響を受けて高濃度になったと推察された。黄砂や越境汚染は近年低減傾向にあり、野焼きの影響を低減できれば、継続的にPM2.5の環境基準を達成できる可能性があると考えられる。

[キーワード：PM2.5, 野焼き]

[Key words : PM2.5, Open Burning]

## 1 はじめに

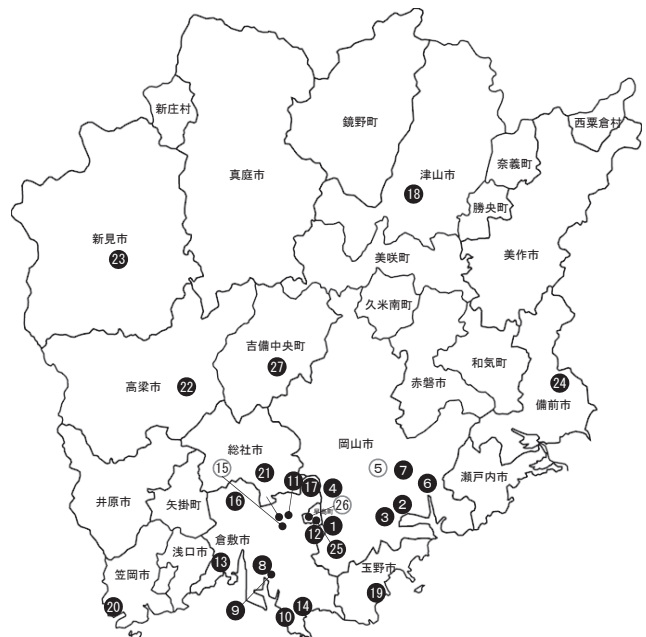
微小粒子状物質（以下「PM2.5」という。）は、大気中に浮遊している2.5 μm（1 μmは1 mmの千分の1）以下の小さな粒子であり、非常に小さいため（髪の毛の太さの1/30程度）、肺の奥深くまで入りやすく、呼吸器系に悪影響を与えることが知られている。さらに、循環器系への影響も報告されている物質である。このため環境基本法第16条第1項に基づき人の健康の適切な保護を図るために維持されることが望ましい水準として、環境基準（1年平均値15 μg/m<sup>3</sup>以下かつ1日平均値35 μg/m<sup>3</sup>以下）が定められている。

岡山県におけるPM2.5の環境基準達成率は令和3年度に初めて100%を達成したものの、令和2年度までは全国に比べて低位で推移している<sup>1), 2)</sup>。このことから、本県内における令和2～3年度における常時監視結果からPM2.5が高濃度になった地点、日及び時間を整理するとともに現地調査及び資料から高濃度になった要因を解析したので報告する。

## 2 方法

### 2.1 調査地点

令和2～3年度にPM2.5の常時監視を行った測定局の配置図を図1に示す。



市町村	測定局	市町村	測定局
岡山市	1 興隆	18 津山	18 津山
	2 江並	19 玉野市	19 玉野
	3 南輝	20 笠岡市	20 渡平
	4 吉備	21 総社市	21 総社
	5 南方	22 高梁市	22 高梁
	6 西大寺	23 新見市	23 新見
	7 東岡山	24 備前市	24 三石
	8 監視センター	25 早島町	25 早島
	9 松江	26 長津	26 長津
	10 塩生	27 吉備中央町	27 吉備高原
	11 倉敷美和		
	12 茶屋町		
	13 玉島		
	14 児島		
	15 大高		
	16 真備		
	17 庄		

● : 一般環境大気測定局  
○ : 自動車排出ガス測定局

図1 PM2.5測定局配置図 (R2～3年度)

## 2.2 調査方法

### 2.2.1 常時監視

岡山市及び倉敷市と連携し、環境大気常時監視マニュアル第6版（環境省）に準じてPM2.5自動測定機（β線吸収法）を用いて常時監視した結果を用いた。

### 2.2.2 野焼き状況の確認

当センター屋上（高さ約13 m）から令和2年度及び令和3年度の11月に毎日（土日祝日を除く。）11時及び16時頃に目視で煙の本数を計測した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 令和2～3年度PM2.5常時監視結果

常時監視を行った全27測定局のうち、令和2年度は、興除局、江並局、南輝局、松江局、茶屋町局、児島局、早島局及び長津局の8局が環境基準（短期基準）非達成であった。一方で令和3年度は全27測定局で環境基準を達成した。

令和2年度のPM2.5の環境基準非達成局8局における令和2～3年度の日平均値の年間98%値及び日平均値が35 μg/m<sup>3</sup>を超えた日数を表1に示す。

令和2年度のPM2.5の環境基準非達成局8局における

表1 PM2.5環境基準非達成局における日平均値の年間98%値及び日平均値が35 μg/m<sup>3</sup>を超えた日数

測定局	日平均値の年間98%値 (μg/m <sup>3</sup> )		日平均値が35 μg/m <sup>3</sup> を超えた日数	
	R2年度	R3年度	R2年度	R3年度
興除	37.2	30.9	9	2
江並	36.9	25.4	8	0
南輝	35.4	24.3	8	0
松江	35.8	28.5	8	2
茶屋町	38.6	27.6	11	2
児島	36.1	26.1	9	0
早島	36.0	30.7	9	4
長津	38.2	27.6	10	2

令和2～3年度の月平均値の推移を図2に示す。

令和2年度はいずれの測定局も8月が最も高濃度であった。また、11月は興除局、茶屋町局、早島局及び長津局はその他の測定局と比較して高濃度であった。

一方、令和3年度の8月は比較的low濃度であった。また、11月は興除局、茶屋町局及び早島局は令和2年度と同様にその他の測定局と比較して高濃度であった。

令和2年度のPM2.5の環境基準非達成局8局における令和2～3年度の日平均値が35 μg/m<sup>3</sup>を超えた月別の日数の推移を表2に示す。

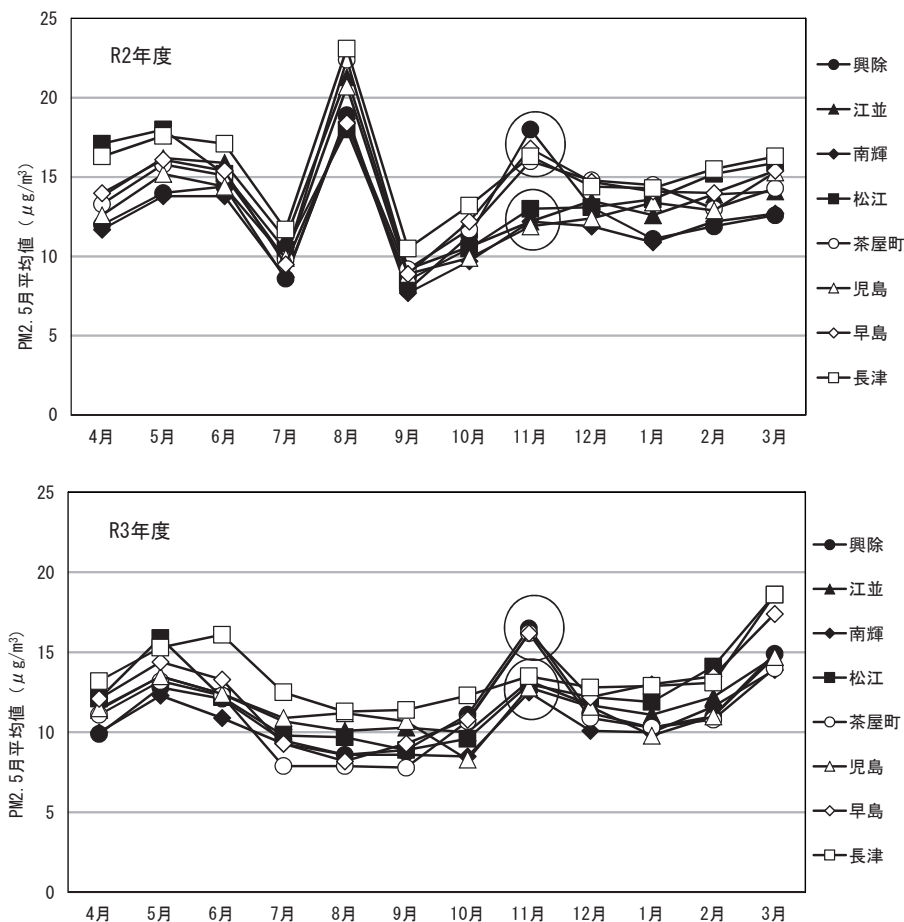


図2 PM2.5の月平均値



表2 日平均値が35  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えた月別の日数

年度	測定局	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月
R2	興除	0	0	1	0	3	0	0	4	0	0	0	1
	江並	0	1	1	0	5	0	0	0	0	0	0	1
	南輝	0	1	1	0	5	0	0	0	0	0	0	1
	松江	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	3
	茶屋町	0	2	1	0	5	0	0	2	0	0	0	1
	児島	0	1	1	0	5	0	0	0	1	0	0	1
	早島	0	1	2	0	3	0	0	1	1	0	0	1
	長津	0	1	2	0	5	0	0	0	1	0	0	1
R3	興除	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	江並	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	南輝	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	松江	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
	茶屋町	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
	児島	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	早島	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
	長津	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2

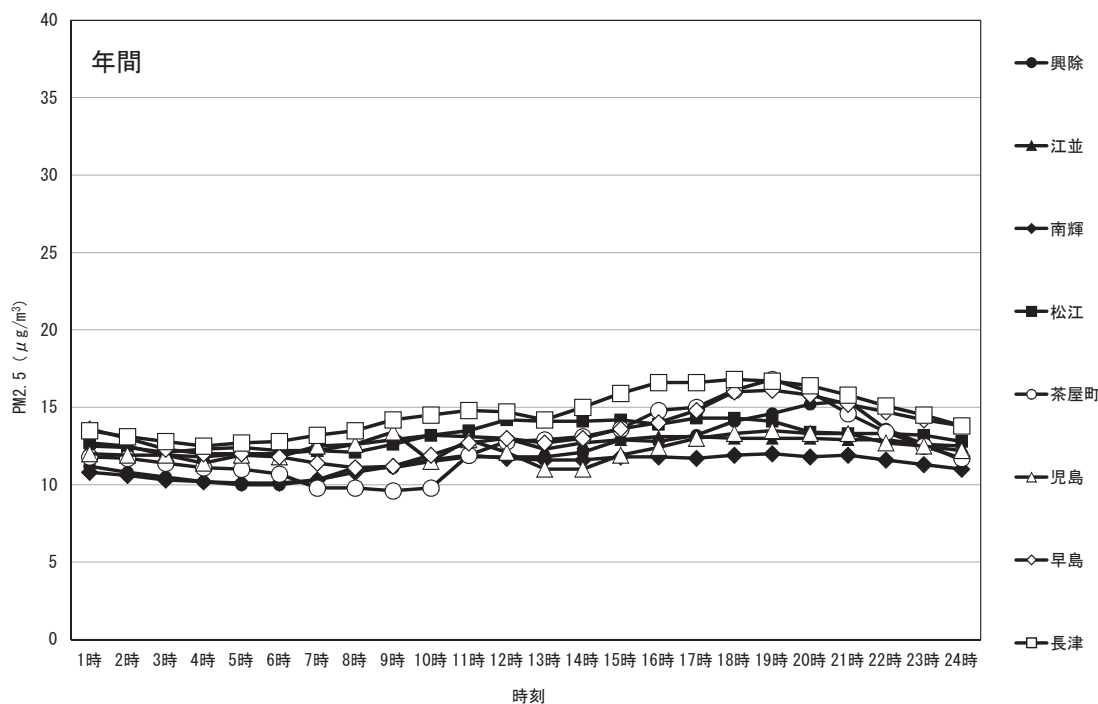


図3 令和2～3年度の年間のPM2.5時刻別濃度推移

全ての測定局で月平均値の高かった令和2年度の8月は、いずれの測定局においても35  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えた日があった。また、令和2年度の11月の月平均値の高かった興除局、茶屋町局及び早島局では、日平均値が35  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えた日があった。

令和3年度は令和2年度と同様に、11月に興除局、茶屋町局及び早島局で日平均値が35  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える日があった。

令和2年度のPM2.5の環境基準非達成局における令和2～3年度の年間のPM2.5の時刻別濃度推移を図3に示す。

いずれの局も午後から夕方にかけて若干の上昇が見られるものの、時刻による大きな変化は見られなかった。

令和2年度のPM2.5の環境基準非達成局における令和2年度及び令和3年度の11月のPM2.5の時刻別濃度推移を図4に示す。

興除局、茶屋町局、早島局及び長津局については、夕方から夜にかけて濃度が上昇していることが確認された。

### 3.2 PM2.5高濃度事象の要因

興除局、茶屋町局、早島局及び長津局については、11

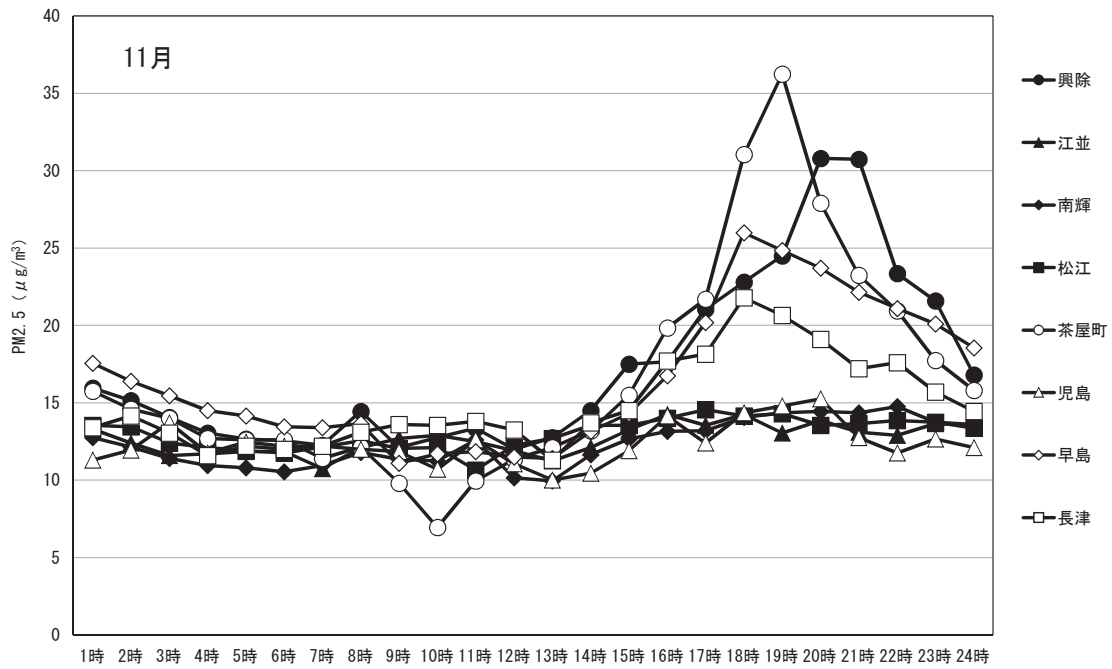


図4 令和2年度及び令和3年度の11月のPM2.5時刻別濃度推移

月の夕方から夜にかけてPM2.5濃度が上昇していた。これらの局は県南の大規模な田園地帯及びその周辺に位置している。この地域では、11月頃に稲わらの野焼きが行われていることから同田園地帯に位置している当センター（興除局の東約1.4 km）屋上から、令和2年度及び令和3年度の11月に目視で煙の本数を計測した。1日に確認された煙の本数（0本、1～5本、6～10本、11本以上）と興除局のPM2.5濃度の平均値との関係を図5に示す。

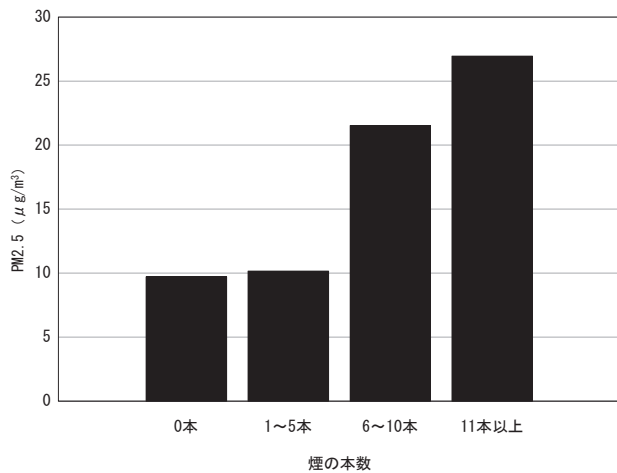


図5 煙の本数と興除局のPM2.5濃度の平均値

煙の本数が多い区分ほどPM2.5の濃度が高くなっており、野焼きがPM2.5濃度の上昇に及ぼす影響が大きいと考えられた。

また、令和2年度の8月はいずれの局でも高濃度であったが、令和3年度の8月は比較的低濃度であった。令和2年8月は小笠原諸島西之島の噴煙の影響を受けて全国

的に高濃度となる日が多く発生している<sup>1)</sup>ことから本県においても噴煙の影響を受けたものと推察された。

一方で、11月の高濃度日が減少することで、噴煙の影響を受けていても環境基準を達成することができた測定局もあった。

また、令和3年度の3月は他の月と比較して月平均値が高く、日平均値が35 µg/m<sup>3</sup>を超えた日もあった。令和3年度の3月は、全国的な黄砂の観測や大陸からの越境汚染の報告がなされており<sup>2, 3)</sup>、これらの事象が影響して高濃度になった可能性が考えられた。

黄砂や越境汚染については、近年低減傾向にあり<sup>2, 3)</sup>、野焼きによる影響を低減することができれば、PM2.5の環境基準を継続的に達成できる可能性があると考えられた。

## 文 献

- 1) 環境省：令和2年度 大気汚染物質（有害大気汚染物質等を除く）に係る 常時監視測定結果,  
<https://www.env.go.jp/content/900400269.pdf>  
(2023.5.29 アクセス)
- 2) 環境省：令和3年度 大気汚染物質（有害大気汚染物質等を除く）に係る 常時監視測定結果,  
<https://www.env.go.jp/content/000139516.pdf>  
(2023.6.26 アクセス)
- 3) 環境省：令和3年度黄砂飛来状況調査報告書  
<https://www.env.go.jp/content/000142641.pdf>  
(2024.1.5 アクセス)

【調査研究】

# 岡山県におけるPM2.5高濃度事象に関する研究

## Study on High Concentration Events of PM2.5 in Okayama Prefecture

小川知也, 野村 茂, 大月史彦, 畝山善光, 森 寛史

OGAWA Tomoya, NOMURA Shigeru, OTSUKI Fumihiko, UNEYAMA Yoshihiro, MORI Hiroshi

### 要 旨

岡山県におけるPM2.5の環境基準達成率は令和3年度に初めて100%を達成したものの、令和2年度までは全国に比べて低位で推移している。県南部の干拓地の田園地帯及びその周辺では、11月の夕方から夜にPM2.5濃度が上昇しており、稲わらの野焼きが影響を及ぼしていることが示唆された。このため、PM2.5質量濃度と燃焼によって生成することが知られているアルデヒド類及び目視で観察された煙の本数との相関関係を調査したところ、正の相関が認められ、野焼きがPM2.5質量濃度の上昇に寄与していると考えられた。

[キーワード：PM2.5, 野焼き, アルデヒド類]

[Key words : PM2.5, Open Burning, aldehydes]

## 1 はじめに

岡山県におけるPM2.5の環境基準達成率は令和3年度に初めて100%を達成したものの、令和2年度までは全国に比べて低位で推移している<sup>1)</sup>。PM2.5が上昇する要因は大陸からの越境、工場・事業場や自動車の排出ガス等種々あるが、本県の秋季特有の事象として、県南部における稲わらの野焼きの影響が想定されている。既報<sup>2)</sup>において県南部の干拓地の田園地帯及びその周辺では、11月にPM2.5が高濃度になる日が確認され、夕方から夜に濃度が上昇していることから、稲わらの野焼きの影響が示唆されることを報告した。

燃焼に関わる物質として、アルデヒド類は燃焼によって生成することが知られている<sup>3)</sup>。そこで今回、県南部の干拓地の田園地帯においてPM2.5が高濃度となる要因をより詳細に明らかにするため、令和4年11月に大気中のPM2.5質量濃度、アルデヒド類の濃度及び野焼きの状況の関連性を初めて調査したので報告する。

## 2 調査方法

調査地点を図1に示す。調査地点は、県南部の干拓地(写真)の田園地帯の中央に位置し、野焼きの影響を大きく受けると考えられる当センターとした。

調査は、稲わらの野焼きが実施される時期である令和4年11月7～22日(土日祝日を除く。)の期間で行った。

PM2.5の試料採取は大気中微小粒子状物質(PM2.5)成分測定マニュアルの捕集方法に準じて、サンプラー(Thermo製FRM-2025i)を使用し、石英繊維濾紙に流



図1 調査地点図



写真 県南部の干拓地

量16.7 L/minで23時間を1日分として採取した。試料採取前後の石英繊維濾紙の重量を天秤（Sartorius製MSA2.7S-000-DF）を用いて秤量しPM2.5の質量濃度を算出した。

アルデヒド類（ホルムアルデヒド及びアセトアルデヒド）は有害大気汚染物質測定方法マニュアルに準じて、次の器具及び試薬を用いて固相捕集－高速液体クロマトグラフ法で試料採取及び測定を行った。

捕集管：富士フィルム・和光純薬工業製プレセップ-C DNPH（富士フィルム・和光純薬工業製オゾンスクラバーを取り付けた。）

ポンプ：ガステック製自動ガス採取装置GSP-400FT

採取条件：100 mL/min 23時間 138L

試薬：富士フィルム・和光純薬工業製アセトニトリル（アルデヒド分析用）

富士フィルム・和光純薬工業製アセトニトリル（HPLC用）

分析装置：高速液体クロマトグラフィー（島津製作所製Nexeraシリーズ）

カラム：Inertsil ODS-3（4.6 mm×250 mm, 5 μm, ジーエルサイエンス製）

移動相：A：富士フィルム・和光純薬工業製アセトニトリル（HPLC用）

B：超純水

0 min（A：60％）→17.50 min（A：65％）  
→17.60 min（A：90％）→22.50 min（A：90％）  
→22.60 min（A：60％）→30.00 min（A：60％）

流量：1 mL/min

試料注量：20 μL

カラム温度：35℃

測定波長：360 nm

野焼きの状況は、当センター屋上（高さ約13 m）から調査期間中（土日祝日を除く。）毎日11時及び16時頃に目視で煙の本数を計測し、1日の合計数を用いた。

### 3 結果及び考察

PM2.5質量濃度、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、煙の本数（11時と16時頃の合計）を表1に示す。

PM2.5質量濃度、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、煙の本数の相関を図2及び図3に示す。

調査地点である県南部の干拓地の田園地帯及びその周

辺では、調査を行った時期である11月に夕方から夜にかけてPM2.5が上昇していることを報告した<sup>2)</sup>。今回の調査において、ホルムアルデヒド及びアセトアルデヒド

表1 PM2.5質量濃度、アルデヒド類濃度及び煙の本数

	PM2.5 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	ホルムアルデヒド ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	アセトアルデヒド ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	煙の本数 (11時と16時頃の合計)
11月7日	22.3	2.3	5.4	25
11月8日	22.9	2.0	5.1	26
11月9日	39.0	3.3	6.2	34
11月10日	38.0	2.8	5.8	24
11月11日	34.5	2.5	6.1	33
11月14日	6.9	0.97	2.1	3
11月15日	8.1	1.4	1.8	5
11月16日	14.6	1.3	2.1	6
11月17日	26.2	1.8	2.9	26
11月18日	23.6	1.9	2.9	17
11月21日	14.6	1.6	2.4	7
11月22日	10.6	1.3	1.5	13

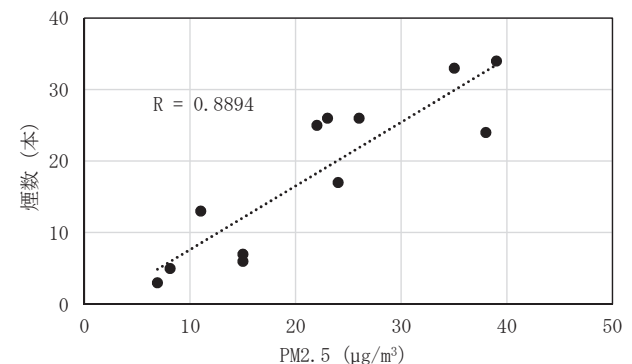
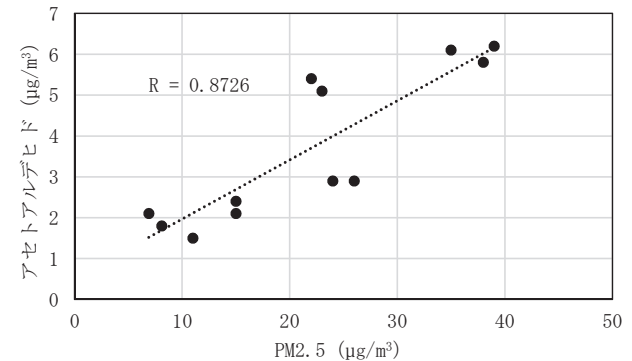
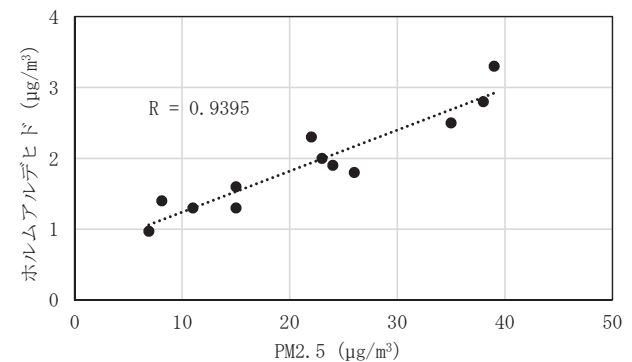


図2 PM2.5質量濃度とホルムアルデヒド、アセトアルデヒド又は煙の本数の相関

## 文 献

- 1) 環境省：令和2年度 大気汚染物質（有害大気汚染物質等を除く）に係る 常時監視測定結果，  
<https://www.env.go.jp/content/900400269.pdf>  
(2023.5.29 アクセス)
- 2) 小川知也，野村 茂，大月史彦，畝山善光，森 寛史：岡山県におけるPM2.5高濃度事象の要因解析について，岡山県環境保健センター年報，47，1-4，2023
- 3) 北畠 茂，対馬典子，野澤直史：青森県内における稲わらの焼却による大気汚染状況について，全国環境研会誌，44，43-48，2019

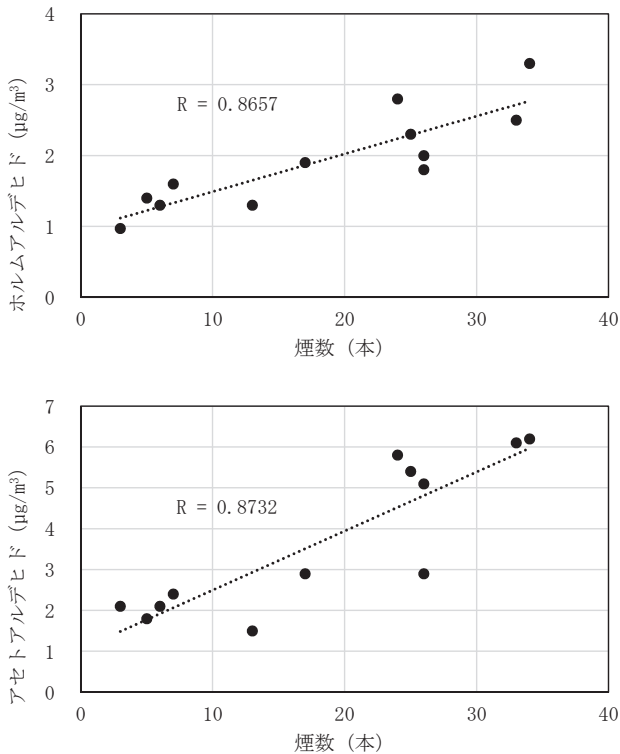


図3 煙の本数とホルムアルデヒド又はアセトアルデヒドの相関

とPM2.5濃度について正の相関が認められた。特にホルムアルデヒドについて，相関が強かった。また，煙の本数とPM2.5についても相関が見られた。

PM2.5やアルデヒド類は物の燃焼によって発生することが知られている。今回初めて野焼きに関し，目視ではあるが煙の本数を把握する定量的なアプローチを試みたが，調査地点周辺の煙の本数が多い日には，PM2.5やアルデヒド類の濃度が高くなる傾向が確認された。野焼きの影響を客観的に示す方法としての可能性が示唆された。

本県では，秋期における稲わらの野焼きの減少に向け，稲わらをすき込んで有効利用することなどを促進するための支援事業（晴れの国ブルースカイ事業）を令和2年度から実施しており，令和3年度に初めてPM2.5の環境基準達成率が100%となった。

しかしながら，県南部の干拓地の田園地帯及びその周辺では，依然として11月の夕方から夜にかけてPM2.5が上昇し， $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を超える高濃度になる日も確認されている。

継続してPM2.5の環境基準を達成するためには，引き続き稲わらの野焼きの減少に向けた対策を推進する必要があると考えられる。





【資料】

GC-MSによる医薬品・生活関連物質（PPCPs）一斉分析法の検討について  
Investigation of pharmaceutical and personal care products (PPCPs) simultaneous analysis method by GC-MS

吉岡敏行, 橋本清美, 小林隆太

YOSHIOKA Toshiyuki, HASHIMOTO Kiyomi, KOBAYASHI Riyuuta

要 旨

医薬品等34物質及び紫外線吸収剤等26物質について、抽出法は溶媒抽出を選択し、精製法として3種類の方法を検討した。マトリックス効果により回収率が150%を超過する物質もあったが、ジクロロメタン抽出-トリメチルシリル化-GC-MS-SIM測定により河川水を暫定的に分析したところ、医薬品等9物質、紫外線吸収剤等9物質が2~330 ng/Lの濃度範囲で検出した。

[キーワード：医薬品・生活関連物質, ガスクロマトグラフ質量分析計, 河川水, 一斉分析法]

[Key words : PPCPs, GC-MS, River water, Simultaneous analysis method]

1 はじめに

PPCPsは、人や動物用医薬品、化粧品等の日用品の総称であり、近年、公共用水域等での水質調査が実施されている。特に、都市域の河川水からはclarithromycin等の抗生物質やtriclosan等の抗菌剤が水生生物に対する予測無影響濃度（PNEC）を超過する地点も報告されている<sup>1, 2)</sup>。また、PPCPsの多くが下水処理場で処理しきれず公共用水域に流れていることも明らかとなっている<sup>1, 2)</sup>。岡山県におけるPPCPsの水質調査事例はほとんどなく、水環境中の存在状況を調査するにあたって、

GC-MSを用いた一斉分析法を検討したのでその結果を報告する。

2 材料及び方法

2.1 検討対象物質と測定法の検討

既存文献<sup>3-7)</sup>から公共用水域等における検出率が高く、標準物質が入手可能な医薬品等34物質と紫外線吸収剤等26物質を選定した。検討対象物質を表1に示す。対象物質にはヒドロキシ基やカルボキシ基を持つものが多く、GC-MS測定が難しい物質が多い。今回、GC-MS

表1 GC/MSによる一斉分析法の検討対象物質

医薬品等	用途等	CAS No.	紫外線吸収剤等	用途等	CAS No.
1 salicylic acid	消炎鎮痛剤	69-72-7	35 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone (BP-3)	日焼け止め、ヘアスタイリング製品	131-57-7
2 aspirin	解熱鎮痛剤	50-78-2	36 Ethyl 2-Cyano-3,3-diphenylacrylate(EC)	紫外線安定剤	5232-99-5
3 ibuprofen	消炎鎮痛剤	15687-27-1	37 2-tert-Butyl-6-(5-chloro-2H-benzotriazol-2-yl)-4-methylphenol (UV-326)	紫外線安定剤	3896-11-5
4 fenopropfen	消炎鎮痛剤	53746-45-5	38 2-Ethylhexyl 4-(Dimethylamino)benzoate (ODPABA)	紫外線吸収剤	21245-02-3
5 flufenamic acid	消炎鎮痛剤	530-78-9	39 2-Ethylhexyl 4-Methoxycinnamate (EHMC)	紫外線吸収剤	5466-77-3
6 flurbiprofen	消炎鎮痛剤	5104-49-4	40 3,3,5-Trimethylcyclohexyl Salicylate (HMS)	紫外線吸収剤	118-56-9
7 naproxen	消炎鎮痛剤	22204-53-1	41 2-(2-Hydroxy-5-tert-octylphenyl)benzotriazole (UV-329)	紫外線安定剤	3147-75-9
8 diflunisal	消炎鎮痛剤	22494-42-4	42 2-Ethylhexyl 2-Cyano-3,3-diphenylacrylate (OC)	紫外線吸収剤	6197-30-4
9 ketoprofen	酸性非ステロイド性抗炎症薬	22071-15-4	43 2-(3,5-Di-tert-butyl-2-hydroxyphenyl)-5-chlorobenzotriazole(UV-327)	プラスチック等の紫外線吸収剤	3864-99-1
10 dichlofenac	非ステロイド性抗炎症薬	15307-79-6	44 2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4,6-di-tert-pentylphenol(UV-328)	プラスチック等の紫外線吸収剤	25973-55-1
11 etodolac	非ステロイド性抗炎症薬	41340-25-4	45 2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(1-methyl-1-phenylethyl)phenol (UV-234)	紫外線安定剤	70321-86-7
12 tolmetin	非ステロイド性抗炎症薬	26171-23-3	46 2,4-Di-tert-butylphenyl 3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzoate(UV-120)	紫外線安定剤	4221-80-1
13 fenbufen	非ステロイド性抗炎症薬	36330-85-5	47 2-Phenoxyethanol (2-PE)	化粧品等の防腐剤	122-99-6
14 asacyclamide	サリチル酸系解熱鎮痛剤	65-45-2	48 Isopropylmethylphenol(IPMP)	ハンドソープ、歯磨き粉等	3228-02-2
15 phenacetin	鎮痛剤	62-44-2	49 Resorcinol (RC)	ヘアカラー、ブリーチ剤	108-46-3
16 indomethacin	非ステロイド性抗炎症薬	53-86-1	50 3-(4-Chlorophenoxy)propane-1,2-diol (CP)	化粧品等	104-29-0
17 clofibrate	抗高脂血症薬	882-09-7	51 Methyl 4-Hydroxybenzoate (MP)	化粧品等	99-76-3
18 bezafibrate	高脂血症	41859-67-0	52 Ethyl 4-Hydroxybenzoate(EP)	化粧品等	120-47-8
19 fenofibrate	高脂血症	49562-28-9	53 Isopropyl 4-Hydroxybenzoate(IPP)	化粧品等	4191-73-5
20 diphenhydramine	第一世代抗ヒスタミン薬	147-24-0	54 Propyl 4-Hydroxybenzoate (PP)	化粧品等	94-13-3
21 promethazine	抗ヒスタミン薬	58-33-3	55 Butyl 4-Hydroxybenzoate (BP)	化粧品等	94-26-8
22 phenytoin	抗てんかん薬	57-41-0	56 4-Chloro-3,5-dimethylphenol (CX)	洗顔料、ベビーパウダー	88-04-0
23 carbamazepine	抗てんかん薬	298-46-4	57 2,4-Dihydroxybenzophenone (BP-1)	日焼け止め、ヘアスタイリング製品	131-56-6
24 propranolol	本態性高血圧症、狭心症	525-66-6	58 2,2'-Dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenone (BP-6)	日焼け止め、ヘアスタイリング製品	131-54-4
25 chlorpropamide	糖尿病治療薬	94-20-2	59 Phenol, 2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-methyl-(UV-P)	紫外線吸収剤	2440-22-4
26 tolbutamide	抗糖尿病薬	64-77-7	60 UV-090	紫外線吸収剤	96478-09-0
27 haloperidol	抗精神病薬	52-86-8			
28 caffeine	精神刺激剤	58-08-2			
29 clofibrate	脂質低下剤	637-07-0			
30 N,N-diethyl-m-toluamide(deet)	虫よけ剤	134-62-3			
31 crotamiton	かゆみ止め	483-63-6			
32 gemfibrazil	脂質降下薬	25812-30-0			
33 triclosan	抗菌剤	3380-34-5			
34 Iopanoic acid	放射線不透過性造影剤	96-83-3			

測定するために、ヒドロキシ基等をトリメチルシリル化する誘導体化法を採用した。トリメチルシリル化剤は、室温で反応するBSTFA (N,O-Bis (trimethylsilyl) trifluoroacetamide) を選定した。各標準物質はアセトン等の有機溶媒に溶解し、100 mg/Lの標準原液を調製した。

各標準物質のマスペクトルを測定するために、測定用バイアルビンに各標準物質1 μL (100 ng) をアセトン200 μLに溶解し、トリメチルシリル化しない標準液を調製した。また、各標準物質1 μL (100 ng) をアセトン150 μLに溶解し、BSTFAを50 μL添加し、トリメチルシリル化標準液を調製した。

各標準原液を医薬品等と紫外線吸収剤等に分けて混合し、2種類の混合標準液 (各1 μg/mL) を調製した。混合標準液を測定用バイアルビンに段階的に分取し、アセトンで150 μLとし、さらにBSTFAを50 μLと内部標準液 (20 μg/mL : Acenaphthene-d10, Phenanthrene-d10) を5 μL (各内部標準物質100 ng) 添加し、検量線溶液 (500, 200, 100, 50, 20, 10, 5, 2, 0 ng/mL) を調製した。

## 2.2 GC-MSの測定条件

GC : Agilent7890B

GCカラム : DB-5MS + DG (30m × 0.25 mm × 0.25 μm : Agilent), カラム温度 : 50 °C (2min) - 20 °C/min - 120 °C (0 min) - 7 °C/min - 310 °C (15 min), 注入方法 : スプリットレス, 注入口温度 : 250 °C, 注入量 : 1 μL, キャリヤガス : ヘリウム (1 mL/min), パージ開始時間 : 1.5分, インターフェース温度 : 240 °C

MS : JMS-Q1500GC

イオン源温度 : 210 °C, イオン化電圧 : 70 eV, イオン化電流 : 50 μA, 検出モード : SIM

## 2.3 前処理法の検討

検討対象物質は、幅広い極性を示す物質のため、操作が比較的簡単に迅速な操作ができる溶媒抽出法を選択した。溶媒はジクロロメタンと酢酸エチルを選択し、添加回収試験を実施した。河川水0.5 L (塩化ナトリウム25 g, アスコルビン酸1 g添加) に混合標準液10 μL (各標準物質10 ng) を添加し、溶媒50 mLで2回抽出し、脱水・濃縮後、内部標準液を5 μL (各内部標準物質100

表2 検討対象物質のm/z及び検量線最低濃度

医薬品等	m/z 1	m/z 2	検量線最低濃度 (ng/mL)	紫外線吸収剤等	m/z 1	m/z 2	検量線最低濃度 (ng/mL)
1 salicylic acid	267	268	5	35 BP-3	285	286	5
2 aspirin	195	210	5	36 EC	277	232	5
3 ibuprofen	160	263	5	37 UV-326	372	374	5
4 fenopfen	270	314	5	38 ODPABA	165	148	5
5 flufenamic acid	263	353	5	39 EHMC	178	161	5
6 flurbiprofen	180	301	5	40 HMS	195	196	5
7 naproxen	185	243	5	41 UV-329	324	380	5
8 diflunisal	379	380	5	42 OC	249	232	5
9 ketoprofen	282	311	5	43 UV-327	414	416	5
10 dichlofenac	214	242	5	44 UV-328	408	394	5
11 etodolac	228	330	5	45 UV-234	504	605	5
12 tolmetin	212	284	5	46 UV-120	305	306	5
13 fenbufen	181	152	5	47 2-PE	151	210	5
14 asalicylamide	266	250	5	48 IPMP	207	222	5
<b>15 phenacetin</b>	<b>236</b>	<b>251</b>	-	49 RC	239	254	-
16 indomethacin	139	312	5	50 CP	200	274	-
17 clofibrac acid	143	169	5	51 MP	209	224	5
<b>18 bezafibrate</b>	<b>120</b>	<b>139</b>	<b>250</b>	52 EP	223	238	5
19 fenofibrate	273	232	25	53 IPP	193	195	5
20 diphenhydramine	165	167	5	54 PP	193	210	5
21 promethazine	198	180	5	55 BP	210	195	5
22 phenytoin	281	176	5	56 CX	213	223	5
23 carbamazepine	193	165	5	57 BP-1	343	344	5
24 propranolol	144	115	5	58 BP-6	403	404	5
25 chlorpropamide	248	250	5	59 UV-P	282	283	5
26 tolbutamide	91	155	50	60 UV-090	294	380	5
<b>27 haloperidol</b>	<b>120</b>	<b>139</b>	-				
28 caffeine	194	109	50				
29 clofibrate	128	169	5				
30 deet	190	119	5				
31 crotamiton	188	203	5				
32 gemfibrazil	201	83	5				
33 triclosan	347	345	5				
34 Iopanoic acid	389	516	25				

15,18,27 : 標準溶液中で分解するため定量が困難な3物質  
19,20,28,29,30,36,38,39,42 : 誘導体化されない物質



ng) 添加し、トリメチルシリル化して回収率を比較した。

底質試料等のマトリックス成分が多い試料の分析を想定し、精製法として、シリカゲルカートリッジカラム (Supelclean:LC-Si 6 mL/1g), ENVI-Carb (Supelclean: 6 mL/250mg) 及びゲルろ過クロマトグラフィー (GPC カラム: Shodex CLNpak PAE-2000 (20 mm φ × 300 mm))<sup>7)</sup> を検討した。

## 2.4 水質試料

河川水は、図1に示す中井橋・霞橋 (高梁川), 落合大橋・乙井手堰 (旭川), 周匝大橋・鴨越堰 (吉井川), 浜の川橋 (伊里川), 笹ヶ瀬橋 (笹ヶ瀬川) 及び倉敷川橋 (倉敷川) の9地点で、令和4年度の春季, 夏季, 秋季及び冬季の計4回採取した。

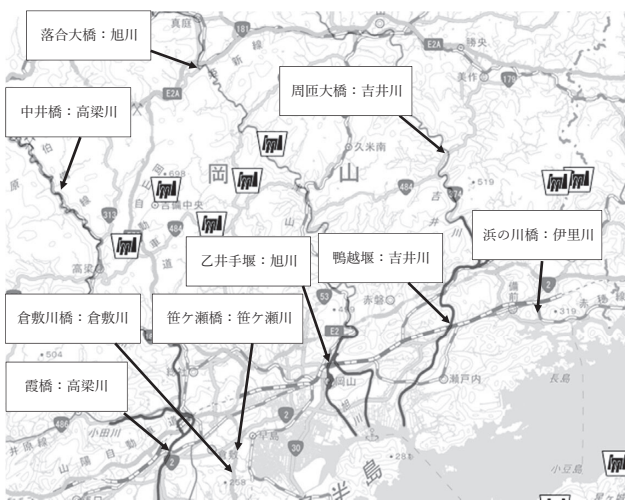


図1 試料採取地点

## 3 結果及び考察

### 3.1 モニターイオンの検討結果

2.1で調製したトリメチルシリル化しない標準液及びトリメチル化した標準液をGC-MS-SCAN測定し、それぞれの標準物質のマススペクトルを得た。各標準液のマススペクトルから定量用イオンと定性用イオンを選択した。なお、検討対象物質にはトリメチルシリル化されない物質が9物質あったが、トリメチルシリル化された物質と同時分析することとした。定量用・定性用イオン及び検量線最低濃度を表2に示す。なお、phenacetin, bezafibrate 及び haloperidol の標準液は保存中に分解することが確認され、定量は困難であった。また、CPは溶媒由来のブランクが検出され、検量線が正しく引けなかった。

### 3.2 前処理法の検討結果

ジクロロメタン抽出と酢酸エチル抽出を比較したところ、回収率が50%に満たない物質は、ジクロロメタンで4物質

(salicylic acid, diphenhydramine, propranolol, RC), 酢酸エチルで13物質 (naproxen, diflunisal, salicylamide, fenofibrate, diphenhydramine, promethazine, phenytiont, carbamazepine, chlorpropamide, caffeine, iopanoic acid, BP-3, OC) であった。したがって、抽出溶媒はジクロロメタンを採用した。ただし、ジクロロメタン抽出の回収率が150%を超過する物質が16物質あり、正のマトリックス効果が強く表れた。また、河川水を分析したところ、対象物質に妨害成分が影響する場合も想定されることから、検出された場合は、標準物質のRT及びI/Q比と比較し、±20%未満のピークを定量することとした。分析フローを図2に示す。ジクロロメタン抽出-直接又は、トリメチルシリル化により検量線最低濃度として50 ng/mL以下で分析が可能な物質は、医薬品等が32物質、紫外線吸収剤等が24物質であった。

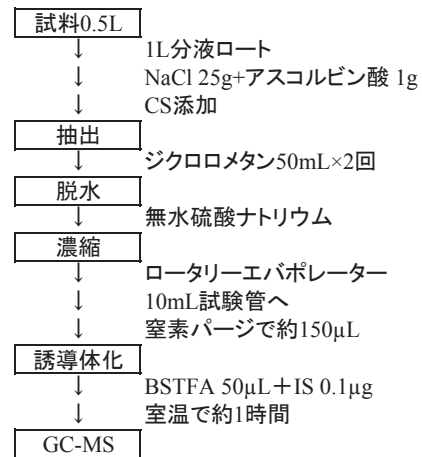


図2 分析フロー

今回、水質試料については精製工程を採用しなかったが、底質試料等を想定した精製法について検討した結果を表3に示す。シリカゲルカートリッジカラムはあらかじめヘキサン10 mLで活性化した後、混合標準物質100 ngを負荷し、溶出溶媒としてFr1:ヘキサン5 mL, Fr2:5%ジクロロメタン/ヘキサン5 mL, Fr3:10%ジクロロメタン/ヘキサン5 mL, Fr4:20%ジクロロメタン/ヘキサン5 mL, Fr5:50%ジクロロメタン/ヘキサン5 mL, Fr6:10%アセトン/ヘキサン5 mL, Fr7:20%アセトン/ヘキサン5 mLを順次流して分画液を得て、各Frを誘導体化した。Fr7までに回収率が50%以上は、医薬品等が13物質、紫外線吸収剤等が22物質であった。

ENVI-Carbはあらかじめトルエン5 mL, アセトン5 mL, ヘキサン5 mLで活性化後、混合標準物質100 ngを負荷し、溶出溶媒としてFr1:ヘキサン5 mL, Fr2:アセトン5 mL, Fr3:トルエン5 mLを順次流して分

画液を得て、各Frを誘導体化した。回収率が50%以上は、医薬品等が16物質、紫外線吸収剤等が24物質であった。

GPCは、シクロヘキサン：アセトン（5：95）を移動相に流速4 mL/minで運転し、カラム温度40℃、試料を2 mL注入し、注入後10分から30分まで2分間隔（各8 mL）で分画液を得た。回収率が50%以上は、医薬品等が8物質、紫外線吸収剤等が19物質であった。

3種類の精製方法すべての回収率が50%以上あったのは、医薬品等が6物質、紫外線吸収剤等が17物質であったことから、底質試料等のマトリックス成分が多い試料を分析する際には有効な手段と考えられた。

### 3.3 水質試料の分析結果

河川水は、採取後直ちに図1にしたがって分析を実施した。検出濃度及び検出頻度等を表4に示す。いずれかの地点で検出された物質は、医薬品等が9物質、紫外線吸収剤等が9物質であった。検出頻度が高い物質は、deet, crotamiton, 2-PE, salicylic acid, UV-326の順であった。検出濃度が高い物質は、2-PEが最大330 ng/L, caffeineが最大270 ng/L, deetが最大96 ng/L, IPMPが最大54 ng/Lであった。河川水から検出されたsalicylic

acidとdiphenhydramineは、添加回収率が50%未満と低いためクリーンアップスパイクとして重水素体を使用する等の分析法の再検討が必要と考えられる。また、indomethacinは、マトリックス効果が大きく、実際の分析ではPEGの添加<sup>8)</sup>等により定量性の問題を解決する必要がある。

今後は、物質の選定を継続し、一斉分析法を確立する。また、河川水等を用いた添加回収試験<sup>9)</sup>を実施し、分析方法の検出下限値（MDL）及び分析方法の定量下限値（MQL）を求め、水質モニタリング調査を実施する予定である。

## 文 献

- 1) 公益財団法人東京都環境公社 東京都環境科学研究所：環境研究総合推進費 終了研究成果報告書 多種・新規化学物質の網羅的モニタリングと地域ネットワークを活用した統合的評価・管理手法の開発（5-1602）  
[https://www.erca.go.jp/suishinhi/seika/db/pdf/end\\_houkoku/5-1602.pdf](https://www.erca.go.jp/suishinhi/seika/db/pdf/end_houkoku/5-1602.pdf)（2023.6.1アクセス）

表3 精製法の検討結果

	医薬品等	LC-Si	ENVI-Carb	GPC
1	salicylic acid	86%	7%	55%:22~30min
2	aspirin	0%	60%	20%:22~30min
3	ibuprofen	97%	73%	123%:14~18min
4	fenopropfen	89%	73%	0%
5	flufenamic acid	102%	13%	0%
6	flurbiprofen	54%	66%	0%
7	naproxen	0%	59%	0%
8	diflunisal	0%	0%	0%
9	ketoprofen	0%	51%	0%
10	dichlofenac	31%	53%	0%
11	etodolac	0%	47%	0%
12	tolmetin	0%	17%	0%
13	fenbufen	0%	0%	0%
14	asalicylamide	86%	7%	0%
15	phenacetin	-	-	-
16	indomethacin	0%	0%	0%
17	clofibrac acid	0%	71%	0%
18	bezafibrate	-	-	-
19	fenofibrate	94%	68%	0%
20	diphenhydramine	0%	81%	0%
21	promethazine	0%	0%	0%
22	phenytoin	0%	11%	0%
23	carbamazepine	0%	37%	0%
24	propranolol	0%	0%	0%
25	chlorpropamide	0%	37%	0%
26	tolbutamide	0%	41%	0%
27	haloperidol	-	-	-
28	caffeine	0%	101%	92%:20~22min
29	clofibrate	53%	95%	106%:12~16min
30	deet	109%	96%	105%:14~18min
31	crotamiton	102%	91%	100%:14~18min
32	gemfibrazil	118%	83%	87%:14~18min

	紫外線吸収剤等	LC-Si	ENVI-Carb	GPC
35	BP-3	104%	70%	133%:16~18min
36	EC	120%	97%	34%:14~16min
37	UV-326	51%	68%	89%:14~16min
38	ODPABA	98%	72%	0%
39	EHMC	115%	97%	25%:12~14min
40	HMS	44%	79%	99%:14~18min
41	UV-329	63%	107%	136%:12~16min
42	OC	124%	109%	29%:12~14min
43	UV-327	50%	68%	70%:12~18min
44	UV-328	26%	22%	52%:12~16min
45	UV-234	145%	75%	149%:12~16min
46	UV-120	123%	61%	0%
47	2-PE	133%	96%	52%:16~18min
48	IPMP	98%	91%	51%:14~18min
49	RC	0%	96%	42%:16~18min
50	CP	-	-	-
51	MP	61%	95%	82%:16~20min
52	EP	112%	98%	89%:16~18min
53	IPP	109%	95%	87%:14~18min
54	PP	117%	99%	93%:14~18min
55	BP	106%	94%	93%:14~18min
56	CX	107%	99%	50%:16~18min
57	BP-1	89%	81%	182%:16~20min
58	BP-6	104%	98%	184%:16~18min
59	UV-P	59%	74%	154%:16~18min
60	UV-090	122%	101%	198%:14~16min

- 2) 公益財団法人東京都環境公社 東京都環境科学研究所：環境研究総合推進費 終了研究成果報告書 国内における生活由来化学物質による環境リスク解明と処理技術の開発 (5-1954)  
[https://www.erca.go.jp/suishinhi/seika/db/pdf/end\\_houkoku/5-1954.pdf](https://www.erca.go.jp/suishinhi/seika/db/pdf/end_houkoku/5-1954.pdf) (2023.6.1 アクセス)
- 2) 吉識亮介, 羽賀雄紀, 山崎富夫, 中越章博, 山本勝也, 松村千里, 藤森一男：兵庫県内の河川及び大気中のベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の汚染実態について, 環境化学, Vol.31, 30-39, 2021
- 3) 鈴木俊也：水環境中のヒト用医薬品の存在実態及び環境中濃度の予測, 東京都健康安全研究センター研究年報, 69, 69-81, 2012
- 4) 鈴木俊也, 矢口久美子, 粟田雅行, 西村哲治, 小縣昭夫：河川水中の医薬品の分析法, 東京都健康安全研究センター研究年報, 60, 253-258, 2009
- 5) 亀田豊, 山下洋正, 尾崎正明：環境中の香料及び紫外線吸収剤の多成分同時分析法の確立と環境中濃度の把握, 水環境学会誌, Vol.31, No.1, 39-46, 2008
- 6) 小野純子, 伊藤耕二, 矢吹芳教：環境水中のBP-3

- 及びEHMCの分析法の構築と分析上の汚染軽減手法の提案, 全国環境研会誌, Vol.47, No.1, 2022
- 7) 吉岡敏行, 劔持堅志, 藤原博一, 中桐基晴, 浦山豊弘：環境中超微量有害化学物質の分析, 検索技術の開発に関する研究 - GC/MSによる底質中の農薬多成分同時分析法の検討 - 岡山県環境保健センター年報, 32, 47-57, 2008  
<https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/12542.pdf> (2023.10.12 アクセス)
- 8) 株式会社アイステイサイエンス：マトリックス効果による異常回収率の対策について, <http://www.aisti.co.jp/common/pdf/gt2010-102.pdf> (2023.4.12 アクセス)
- 9) 環境省大臣官房環境保健部環境安全課：化学物質環境実態調査実施の手引き (令和2年度版), 令和3年3月, 89-91 (2023.4.12 アクセス)

表4 河川水検出濃度及び検出頻度

	医薬品等	試料換算濃度 (ng/L)	分析上の注意点	河川水検出濃度 (ng/L)	検出頻度
1	salicylic acid	2	添加回収率40%程度	<2-5	23/36
2	aspirin	2	添加回収率40%程度	不検出	-
3	ibuprofen	2		<2-11	5/36
4	fenoprofen	2		不検出	-
5	flufenamic acid	2		不検出	-
6	flurbiprofen	2		<2-2	1/36
7	naproxen	2		不検出	-
8	diflunisal	2		不検出	-
9	ketoprofen	2	マトリックス効果大	不検出	-
10	dichlofenac	2		不検出	-
11	etodolac	2	マトリックス効果大	不検出	-
12	tolmetin	2	マトリックス効果大	不検出	-
13	fenbufen	2	マトリックス効果大	不検出	-
14	asalicvlamide	2		<2-3	2/36
15	phenacetin	-		-	-
16	indomethacin	2	マトリックス効果大	<2-18	5/36
17	clofibrac acid	2		不検出	-
18	bezafibrate	100	マトリックス効果大	不検出	-
19	fenofibrate	10	マトリックス効果大	不検出	-
20	diphenhydramine	2	回収率50%程度	<2-8	1/36
21	promethazine	2		不検出	-
22	phenytoin	2		不検出	-
23	carbamazepine	2	マトリックス効果大	不検出	-
24	propranolol	2	ジクロロメタン抽出不可	-	-
25	chlorpropamide	2	妨害有、m/z要変更	不検出	-
26	tolbutamide	20		不検出	-
27	haloperidol	-	分析不能	-	-
28	caffeine	20		<20-270	14/36
29	clofibrate	2		不検出	-
30	deet	2		<2-96	26/36
31	crotamiton	2		<2-44	26/36
32	gemfibrazil	2		不検出	-
33	triclosan	2		不検出	-
34	Iopanoic acid	10	マトリックス効果大	不検出	-

	紫外線吸収剤等	試料換算濃度 (ng/L)	分析上の注意点	河川水検出濃度 (ng/L)	検出頻度
35	BP-3	2		不検出	-
36	EC	2		不検出	-
37	UV-326	2		<2-44	22/36
38	ODPABA	2		不検出	-
39	EHMC	2		<2-12	5/36
40	HMS	2		<2-25	8/36
41	UV-329	2		不検出	-
42	OC	2	マトリックス効果大	不検出	-
43	UV-327	2		不検出	-
44	UV-328	2		不検出	-
45	UV-234	2	マトリックス効果大	不検出	-
46	UV-120	2		不検出	-
47	2-PE	2		<2-330	25/36
48	IPMP	2		<2-54	13/36
49	RC	-	定量困難	-	-
50	CP	-	定量困難	-	-
51	MP	2		不検出	-
52	EP	2		<2-4	3/36
53	IPP	2		<2-11	5/36
54	PP	2		<2-2	1/36
55	BP	2		不検出	-
56	CX	2		不検出	-
57	BP-1	2		不検出	-
58	BP-6	2		不検出	-
59	UV-P	2		<2-4	2/36
60	UV-09	2	マトリックス効果大	不検出	-

\*「分析上の注意点」欄が空白の物質は、添加回収試験に問題はなかった。





## 【資料】

# 児島湖の水質改善に向けた難分解性有機物等の実態把握に関する研究 (第1報)

## Quantitative Estimation of Refractory Organic Matter and Other Substances for Water Quality Improvement in Lake Kojima (1st Report)

喜多真帆, 北村雅美, 沖 拓哉, 林ひかる, 坂口浩範

KITA Maho, KITAMURA Masami, OKI Takuya, HAYASHI Hikaru, SAKAGUCHI Hironori

## 要 旨

児島湖のCODは環境基準 (5 mg/L以下) を達成しておらず, 近年改善傾向が横ばいとなっている。その一因として指摘されている難分解性COD及び難分解性有機物について令和4から6年度の3年間, 児島湖内等で実態把握を行い, 環境基準の未達成要因の推定等を行うこととしている。令和4年度は, 湖内2地点 (湖心及び縮切堤防) で予備調査を行い, 100日間生分解試験を実施したところ, 難分解性COD<sub>Mn</sub>の比率は34% (湖心) 及び37% (縮切堤防) となった。これは, CODの環境基準 (5 mg/L) の約6割に相当していた。また, 難分解性TOCの比率は44% (湖心) 及び50% (縮切堤防) であり, 霞ヶ浦 (40%) 等と近い値であった。一方, 比較対照として, 5℃の暗所での静置状態ではCOD<sub>Mn</sub>及びTOC共に生分解があまり進行せず, 懸濁態の一部が溶存態に移行すると考えられた。

[キーワード: 児島湖 難分解性COD 難分解性有機物 生分解試験]

[Key words: Lake-Kojima Hard-to-degrade COD Hard-to-degrade organic matter Biodegradation test]

## 1 はじめに

岡山県南に位置する児島湖は, 昭和34年 (1959年) の完成以来, 県下最大の干拓地において水田農業近代化の先導的役割を果たしてきたが, 流域の人口増加や産業の活性化などにより水質汚濁が進行した。本県では, 「岡山県児島湖環境保全条例」の制定など各種施策の実施と関係者の努力により水質は緩やかに改善傾向にあるものの, 平成18年頃からはCODは横ばいとなっており, 未だ環境基準 (COD5 mg/L以下等) を達成していない<sup>1)</sup>。

こうした傾向は他の湖沼等においてもみられるが, その一因として, 微生物では分解されにくい「難分解性有機物」の割合の増加が指摘されている<sup>2~5)</sup>。一方, 児島湖では難分解性有機物に関する知見が乏しいことから, 令和4年度から6年度にかけて湖内での難分解性有機物の実態把握を行い, 環境基準の未達成要因について推定等を行うこととしているが, その実験手法である生分解試験については, 確立した手法がない。こうしたことから, 他県<sup>2~6)</sup>の事例等を参考に予備調査を行ったので, その結果を報告する。

## 2 調査方法

## 2.1 試料採取

春季にCODが高値を示す傾向があることを踏まえ, 予備試験のための試料として令和4年5月11日に, 図1

に示す児島湖内2地点 (湖心及び縮切堤防) でステンレスバケツを用いて表層水を採取し, ポリ容器に入れて持ち帰った。

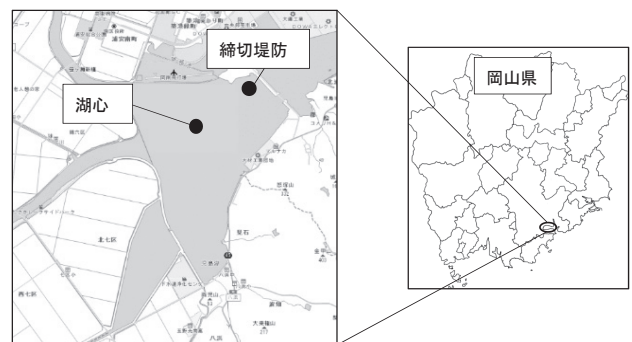


図1 調査図

## 2.2 生分解試験の条件設定

一般的に, 難分解性有機物は, 「一定期間微生物による分解を経た後に分解しないで残存するもの」と定義されている。今回の予備試験は, ①20℃の恒温状態, ②暗所, ③酸素が十分に存在する状態という環境とし, 期間は同様の条件下で有機物濃度の減少が収まると報告されている100日間とした<sup>3~5)</sup>。当条件において生分解試験を実施し, 試験終了後に残存した有機物を難分解性有機物とした。なお, 酸素の供給法としては, 振とう培養器での振とうやばっ気等があるが, 長期試験のため清浄な試験環境の構築と維持が必要となること, 実際の活用

実績があることなどを考慮し、マグネチックスターラーによる常時攪拌方式とした<sup>3), 5)</sup>。

### 2.3 試験方法

あらかじめ450℃で4時間加熱処理した5L広口ガラスビンに採取した各試料4Lを入れ、20℃の恒温状態の暗所でマグネチックスターラーを用いた常時攪拌を行った。また、比較対象として、同試料を5℃の暗所で静置状態として保存した。試験期間中、0, 3, 7, 14, 28, 56, 100日後にそれぞれの試験系（常時攪拌及び静置状態）の試料約500mLを採取した。試料の一部は、あらかじめ450℃で2時間強熱処理したガラス繊維ろ紙（Whatman GF/F）でろ過し、下記2.4に示した測定項目及び測定方法により全有機物と溶存態有機物の測定を行った。

### 2.4 測定項目及び測定方法

測定項目として、有機物の指標であるCOD<sub>Mn</sub>（100℃における過マンガンカリウムによる酸素消費量）とTOC（全有機体炭素）を選定した。COD<sub>Mn</sub>はJIS K0102 17に、TOCはJIS K0102 22.2に準拠して測定を行った。TOC計は、(株)島津製作所製TOC-Lを使用した。なお、懸濁態有機物量は、測定した全有機物量から溶存態有機物量を差し引いて算定し、P-COD<sub>Mn</sub>（懸濁態COD<sub>Mn</sub>）は「COD<sub>Mn</sub>からD-COD<sub>Mn</sub>（溶存態COD<sub>Mn</sub>）を減じたもの」、POC（懸濁態TOC）は「TOCからDOC（溶存態TOC）を減じたもの」とした。

## 3 結果及び考察

### 3.1 生分解試験結果

図2に湖心及び締切堤防の試料に係るCOD<sub>Mn</sub>の生分解試験結果を示す。いずれの試料もCOD<sub>Mn</sub>は7日目までに急激に減少し、日数の経過とともに有機物等が徐々に生分解され、100日後に難分解性COD<sub>Mn</sub>は3.2mg/L（湖心）及び3.3mg/L（締切堤防）となった。難分解性CODの比率は34%（湖心）及び37%（締切堤防）であり、これは環境基準（5mg/L）の約6割に相当した。

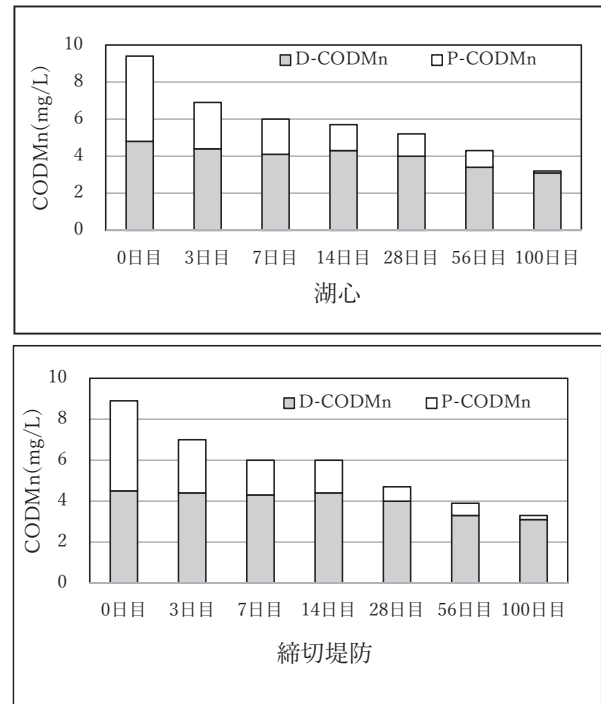


図2 湖心及び締切堤防の試料に係るCOD<sub>Mn</sub>生分解試験結果

図3に湖心及び締切堤防の試料に係るTOCの生分解試験結果を示す。いずれの試料もTOCは7日目までに急激に減少し、日数の経過とともに有機物等が徐々に生分解され、100日後に難分解性TOCは2.1mg/L（湖心）及び2.2mg/L（締切堤防）となった。難分解性TOCの比率は44%（湖心）及び50%（締切堤防）であり、霞ヶ浦（40%）<sup>2)</sup>、諫早干拓湾調整池（36~81%, 平均53%）<sup>3)</sup>に近く、琵琶湖（76%）<sup>4)</sup>より低かった。

また、難分解性DOCの比率は65%（湖心）及び73%（締切堤防）であり、霞ヶ浦（80%）<sup>2)</sup>、諫早干拓湾調整池（62~85%, 平均74%）<sup>3)</sup>、琵琶湖（70~75%）<sup>4)</sup>、河北潟（81%）<sup>5)</sup>と近い値であった。

生分解試験100日時点の難分解性有機物の濃度は、56日時点と顕著な差はなくなっていたことから、当センターにおける試験においても、試験期間は100日とすることで結果の評価は可能と考えられた。

表1 数値データ（COD<sub>Mn</sub>生分解試験及び静置100日試験結果） 単位：mg/L

	0日目	3日目	7日目	14日目	28日目	56日目	100日目	静置100日目
COD ※湖心	9.4	6.9	6.0	5.7	5.2	4.3	3.2	8.0
D-COD ※湖心	4.8	4.4	4.1	4.3	4.0	3.4	3.1	5.1
COD ※締切堤防	8.9	7.0	6.0	6.0	4.7	3.9	3.3	9.0
D-COD ※締切堤防	4.5	4.4	4.3	4.4	4.0	3.3	3.1	5.4

表2 数値データ（TOC生分解試験及び静置100日試験結果） 単位：mg/L

	0日目	3日目	7日目	14日目	28日目	56日目	100日目	静置100日目
TOC ※湖心	4.8	*	3.3	3.3	3.0	2.4	2.1	4.0
D-TOC ※湖心	3.2	*	2.7	2.7	2.6	2.3	2.1	3.3
TOC ※締切堤防	4.5	*	3.2	3.5	2.8	2.5	2.2	4.2
D-TOC ※締切堤防	3.1	*	2.8	2.9	2.5	2.3	2.3	3.4

※3日目は測定機器の不調により欠測

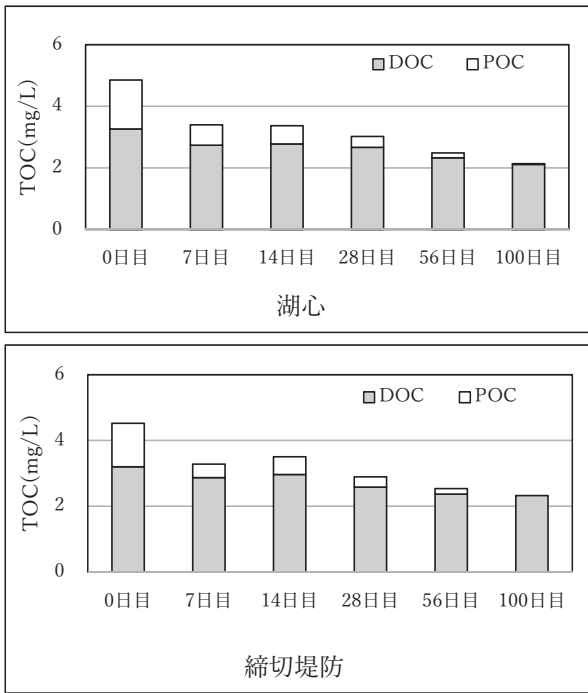


図3 湖心及び縮切堤防の試料に係るTOC生分解試験結果

### 3.2 静置試験結果との比較

図4にCOD<sub>Mn</sub>に係る静置試験と生分解試験の比較結果を示す。静置試験における100日後のCOD<sub>Mn</sub>は、8.0 mg/L（湖心）及び9.0 mg/L（縮切堤防）であり、0日目と100日目を比較したCOD<sub>Mn</sub>の残存率は、生分解試験で34%（湖心）及び37%（縮切堤防）であったのに対し、静置試験では85%（湖心）及び101%（縮切堤防）であった。これにより、静置試験では生分解があまり進行しないことが示唆された。また、静置試験ではCOD<sub>Mn</sub>の減少は少ないもののD-COD<sub>Mn</sub>が増加し、P-COD<sub>Mn</sub>が減少していた。これは懸濁態COD<sub>Mn</sub>の一部が溶存態COD<sub>Mn</sub>に移行したものと考えられた。

図5にTOCに係る静置試験と生分解試験の比較結果を示す。静置試験における100日後のTOCは、4.0 mg/L（湖心）及び4.2 mg/L（縮切堤防）であり、TOCの残存率は生分解試験で44%（湖心）及び50%（縮切堤防）であったのに対し、静置試験では81%（湖心）及び91%（縮切堤防）であった。また、静置試験と同様にDOCの増加とPOCの減少が確認された。これにより、TOCもCOD<sub>Mn</sub>と同様の傾向にあることが示唆された。

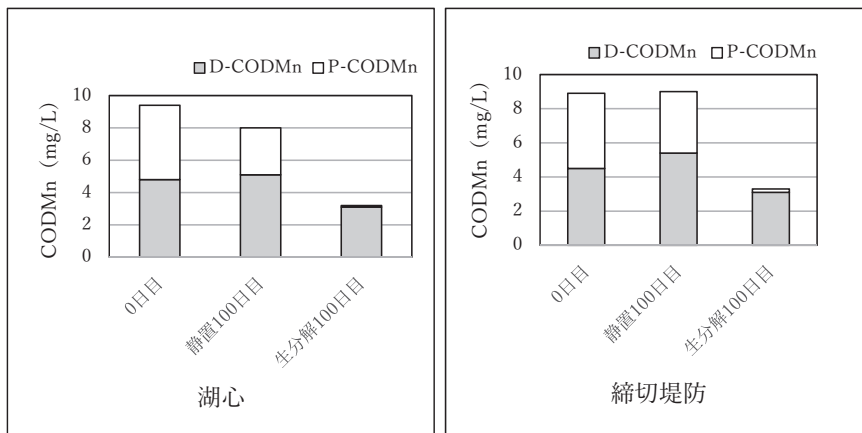


図4 COD<sub>Mn</sub>に係る静置試験と生分解試験の比較結果

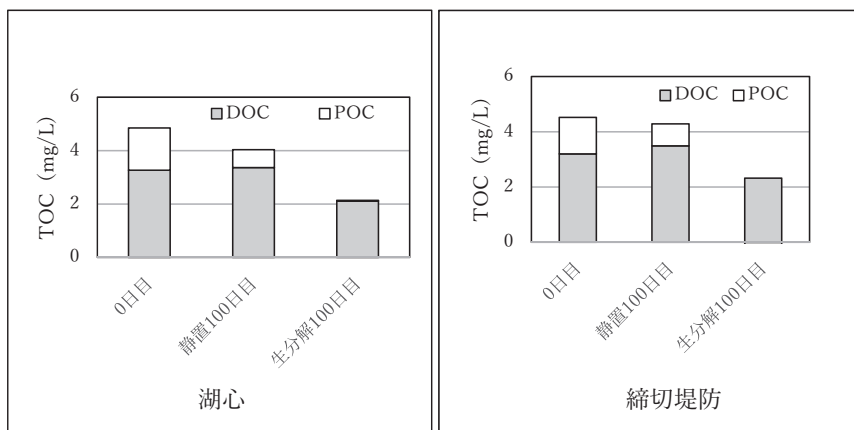


図5 TOCに係る静置試験と生分解試験の比較結果

## 4 まとめ

- (1) 20℃の恒温、暗所かつ酸素が十分に存在する状態で100日間の生分解試験を実施したところ、難分解性COD<sub>Mn</sub>は3.2 mg/L（湖心）及び3.3 mg/L（縮切堤防）、難分解性TOCは2.1 mg/L（湖心）及び2.2 mg/L（縮切堤防）となった。
- (2) 難分解性COD<sub>Mn</sub>の比率は、34%（湖心）及び37%（縮切堤防）であり、これは、CODの環境基準（5 mg/L）の約6割に相当していた。
- (3) 難分解性TOCの比率は、44%（湖心）及び50%（縮切堤防）であり、霞ヶ浦（40%）、諫早湾干拓調整池（36～81%、平均53%）に近く、琵琶湖（76%）より低かった。
- (4) 難分解性DOCの比率は、65%（湖心）及び73%（縮切堤防）であり、霞ヶ浦（80%）、諫早干拓湾調整池（62～85%、平均74%）、琵琶湖（70～75%）、河北潟（81%）と近い値であった。
- (5) 静置試験（5℃の暗所で静置状態）の結果、COD<sub>Mn</sub>及びTOC共に生分解があまり進行しておらず、懸濁態の一部が溶存態に移行すると考えられた。

今回の予備試験で基本的な生分解試験の条件設定ができたことから、これら知見をもとに、今後季節変動を把握するなど児島湖における難分解性有機物等の調査を進めていくこととしている。

## 文 献

- 1) 岡山県：児島湖ハンドブック，（令和5年3月），2023
- 2) 霞ヶ浦環境科学センター：有機炭素の挙動の解明に関する研究 茨城県霞ヶ浦環境科学センター年報，10，44，2014
- 3) 陣野 宏宙，浦 伸孝，桑岡 莉帆，橋本 京太郎，植野 康成：諫早湾干拓調整池等における有機物特性に関する研究，水環境学会誌，42（4），177-184，2019
- 4) 岡本 高弘，佐藤 祐一，早川 和秀，古角 恵美：難分解性有機物を含めた有機物による琵琶湖の水質汚濁メカニズムについて，滋賀県琵琶湖環境科学研究センター研究報告書，5，25-35，2009
- 5) 安田 能生弘，牧野 雅英，谷村 睦美，亀井 とし：河北潟における難分解性有機物に関する実態調査（中間報告），石川県保健環境センター研究報告書，50，38-41，2013
- 6) （公財）琵琶湖・淀川水質保全機構 琵琶湖・淀川

水質浄化研究所：琵琶湖・淀川流域の難分解性有機物に関する調査・分析の手引書（案）＜概要版＞  
<http://www.byq.or.jp/kento/img/data03.pdf>  
（2023.5.24 アクセス）



【資料】

人形峠周辺の環境放射線等測定に係る補完調査－松葉－（第2報）

Complement Survey of Environmental Radiation Level around Ningyotoge  
- Pine Needles -(2nd Report)

中野拓也, 小川 登, 信森達也, 徳田 亨, 森上嘉亮

NAKANO Takuya, OGAWA Noboru, NOBUMORI Tatsuya, TOKUDA Kyou,  
MORIKAMI Yoshiaki

要 旨

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺の環境放射線等測定結果を評価する上での補完データの蓄積を目的として、令和3～5年度の3年間、岡山県内に生育する松葉を採取し、放射性核種濃度及びふっ素濃度の調査を実施することとしている。令和4年度の調査では、人形峠周辺における監視測定結果と県内8エリアの測定値の平均値を比較すると、ラジウム226濃度は人形峠周辺が県内8エリアより高い傾向が見られた。一方、各エリアの測定結果を比較すると、ウラン238及びラジウム226濃度については高い値を示すエリアがあった。

令和3年度の調査で放射能濃度が特に高かった1エリアについて各個体間の結果を比較すると、ウラン238及びラジウム226濃度は、人形峠周辺における監視測定結果を上回る濃度が検出されるなど大きな個体差が見られた。

[キーワード：松葉, 環境放射能, ウラン238, ラジウム226, ふっ素]

[Key words : Pine Needles, Environmental Radiation, U-238, Ra-226, Fluorine]

1 はじめに

岡山県では、国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺において環境放射線等の監視測定（以下「監視測定」という。）を昭和54年度から継続して行っている。他方、監視測定結果を評価する上での補完データの蓄積を目的として、環境放射線等のバックグラウンドレベルを把握しており、令和3～5年度は、監視測定対象である松葉に含まれる放射性核種及びふっ素（以下「F」という。）の濃度レベルの調査を行っている。<sup>1)</sup>

このうち、令和4年度については、令和3年度に実施した調査（以下「R3調査」という。）<sup>1)</sup>と同一のエリアで実施するとともに、放射能濃度が特に高かったエリアで追加調査を実施したので、その結果を報告する。

2 材料と方法

2.1 試料採取方法、調査時期及び検体数

試料採取に当たっては、県内全域を対象とするため、岡山県を図1に示すように9メッシュに区切り、このうち海域が大半を占める1エリアを除く8エリアを調査対象とした。

松葉は、近接して生育する複数の個体を対象とし、樹冠下部の枝ごと採取した。調査時期は4～6月とし、12

検体の試料を採取した。併せて、松葉と生育土壌中の放射性核種及びF濃度の関連性を確認するため、試料を採取した松の近傍の表土（0～5 cm）を採取した。

また、県内8エリアのうちの1エリア（B2エリア）については、R3調査で放射能濃度が特に高かったことから、個体間の差を調査するため、R3調査の個体（B2①）

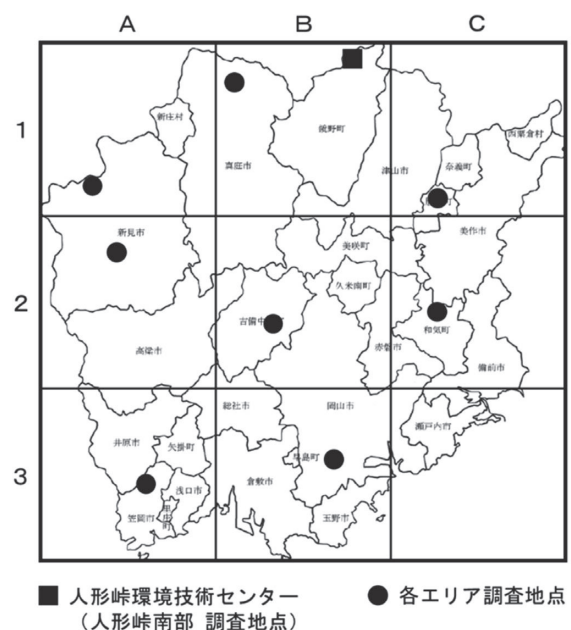


図1 県内メッシュ調査図

に加えて、半径約100 m以内に点在する4個体（B2②～B2⑤）を追加調査の対象とした。

## 2.2 測定項目、測定方法等

測定項目、測定方法及び使用した測定機器を表1に示す。監視測定では、放射能測定法シリーズ<sup>2)</sup>に準拠して試料の採取及び前処理を行った後、ウラン238（以下「U-238」という。）及びラジウム226（以下「Ra-226」という。）濃度は同シリーズに、F濃度はFイオン電極法<sup>3), 4)</sup>に準拠してそれぞれ測定しており、令和4年度に実施した本調査（以下「R4調査」という。）においても同様の方法により行った。

また、参考として、R4調査ではγ線放出核種であるセシウム134及びセシウム137（以下「Cs-134」及び「Cs-137」という。）、カリウム40（以下「K-40」という。）濃度も併せて調査した。これらは放射能測定法シリーズ<sup>2)</sup>に準拠し、U-8容器に試料を充填し、Ge半導体検出器（CANBERRA製GC2518）を用いて測定した。なお、密度についてはU-8容器に充填した試料重量及び容積から算出した。

## 2.3 試料の前処理

松葉は枝から採取した2年葉を分析対象試料とし、それぞれの測定項目に応じて前処理及び試料調製を行った。U-238及びRa-226の濃度測定に供する試料は、105℃の熱風循環式乾燥装置（富士科学器械製S7P）で十分に乾燥させ、脱臭装置付電気炉（東京技術研究所製TFF80-C）を用いて灰試料とした。

F濃度の測定に供する試料については、105℃の定常恒温器（ヤマト科学製DK63）で試料を十分に乾燥させ、ウイレー型粉碎机（吉田製作所製1029-A）で粉碎した。

土壌は2 mmのふるいを通したものをU-238、Cs-134、Cs-137及びK-40の濃度測定用試料とし、300 μmのふるいを通したものをRa-226濃度測定用試料に、150 μmのふるいを通したものをF濃度測定用試料とした。

## 3 結果及び考察

松葉のR4調査結果と人形峠周辺における監視測定結果（以下「人形峠監視結果」という。）を表2に示す。なお、B2エリアはR3調査の個体（B2①）から採取した松葉の測定結果を代表値とした。（以下、表4及び表6

表1 測定項目、測定方法、測定機器一覧

測定項目	測定方法	測定機器
U-238	TBP抽出分離法及びα線スペクトロメトリ法	α線波高分析装置 (CANBERRA製α-Analyst)
Ra-226	EDTA-4Na分解・BaSO <sub>4</sub> 再沈法及び全α計数法	2πガスフロー自動測定装置 (日立アロカメディカル製LBC-4311B)
F	Fイオン電極法	Fイオンメーター (サーモフィッシャーサイエンティフィック製VERSA STAR)
Cs-134 Cs-137 K-40	Ge半導体検出器によるγ線放出核種測定	Ge半導体検出器 (CANBERRA製GC2518)

表2 松葉の放射性核種及びF濃度の測定結果

エリア	採取年月日	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	F			Cs-134 (Bq/kg生)	Cs-137 (Bq/kg生)	K-40 (Bq/kg生)
					乾 (mg/kg乾)	生 (mg/kg生)	水分率 (%)			
A1	R4.5.18	1.2	0.025 ± 0.002	0.25 ± 0.03	1.1	0.6	48.4	ND	0.019 ± 0.005	74.0 ± 0.5
A2	R4.5.18	1.0	0.016 ± 0.002	0.15 ± 0.02	0.9	0.5	50.7	ND	ND	62.7 ± 0.4
A3	R4.5.23	1.4	0.081 ± 0.005	0.60 ± 0.04	1.9	0.9	51.6	ND	ND	79.9 ± 0.6
B1	R4.5.16	1.4	0.019 ± 0.002	0.24 ± 0.03	1.3	0.6	52.7	ND	0.126 ± 0.008	52.1 ± 0.5
B2 ①	R4.5.30	1.6	0.114 ± 0.008	0.41 ± 0.04	1.7	0.8	52.8	ND	ND	80.6 ± 0.6
B3	R4.5.10	1.2	0.026 ± 0.002	0.20 ± 0.02	1.6	0.8	47.8	ND	ND	69.0 ± 0.5
C1	R4.5.16	0.9	0.018 ± 0.002	0.18 ± 0.02	1.0	0.5	54.1	ND	0.054 ± 0.008	76.9 ± 0.5
C2	R4.5.23	1.0	0.030 ± 0.003	0.36 ± 0.03	1.5	0.8	50.0	ND	0.063 ± 0.006	60.1 ± 0.4
測定値の範囲			0.016 ~ 0.114	0.15 ~ 0.60	0.9 ~ 1.9	0.5 ~ 0.9		ND	ND ~ 0.126	52.1 ~ 80.6
平均値			0.041	0.30	1.4	0.7		ND	0.066	69.4
人形峠周辺	R4.6.6	1.0	0.028 ± 0.003	1.11 ± 0.06	0.9	0.4	54.7	ND	0.031 ± 0.007	65.3 ± 0.5

について同じ。)

放射性核種の濃度は、松葉の灰化率から生重量当たりの放射能濃度に換算 (Bq/kg生) し、F濃度は、松葉の水分率から生重量当たりのF濃度に換算 (mg/kg生) した。

なお、放射線計測による測定結果は、測定値が計数誤差の3倍を超える場合を有意値とし、3倍以下の場合もND (不検出) と表記した。

松葉のU-238濃度は0.016~0.114 Bq/kg生、Ra-226濃度は0.15~0.60 Bq/kg生、F濃度は0.5~0.9 mg/kg生、Cs-134濃度は全地点でND、Cs-137濃度はND~0.126 Bq/kg生、K-40濃度は52.1~80.6 Bq/kg生であった。

県内8エリアにおけるR4調査結果の平均値 (以下「全エリア平均値」という。) と人形峠監視結果を比較すると、U-238、F、Cs-134及びK-40濃度については特徴的な差は見られなかった。Ra-226濃度は人形峠周辺でやや高く、一方Cs-137濃度は人形峠周辺でやや低い傾向が見られた。なお、Cs-137及びK-40の濃度は、福島第一原発事故前である平成元年~平成22年の他県 (島根県)

の松葉の測定結果 (Cs-137濃度: ND~0.53 Bq/kg生、K-40濃度: 39~115 Bq/kg生)<sup>5)</sup> と同程度であった。

各エリアの測定結果を比較すると、F、Cs-134、Cs-137及びK-40の濃度は各エリア間で特徴的な差は見られなかったが、U-238濃度はB2①エリアで、Ra-226濃度はA3エリアで全エリア平均値の2倍を超える高い値が確認された。

R3調査で放射能濃度が特に高かったB2エリアの5個体の測定結果と人形峠監視結果を表3に示す。

人形峠監視結果とB2エリアにおけるR4調査結果の測定結果の平均値 (以下「B2エリア平均値」という。) を比較すると、F、Cs-134及びK-40の濃度は特徴的な差は見られなかったが、U-238及びRa-226の濃度は人形峠周辺よりもB2エリアが高い傾向が見られた。

B2エリアの各個体間の結果を比較すると、F、Cs-134、Cs-137及びK-40の濃度は大きな差は見られなかったが、U-238濃度で最大5倍程度、Ra-226濃度で最大10倍程度の個体差が見られた。

土壌のR4調査結果と、人形峠監視結果を表4に示す。

表3 松葉の放射性核種及びF濃度の測定結果 (B2エリア)

エリア	採取年月日	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	F			Cs-134 (Bq/kg生)	Cs-137 (Bq/kg生)	K-40 (Bq/kg生)
					乾 (mg/kg乾)	生 (mg/kg生)	水分率 (%)			
B2 ①	R4.5.30	1.6	0.114 ± 0.008	0.41 ± 0.04	1.7	0.8	52.8	ND	ND	80.6 ± 0.6
B2 ②	R4.5.30	1.4	0.183 ± 0.012	4.60 ± 0.16	1.3	0.6	54.5	ND	0.033 ± 0.009	75.9 ± 0.6
B2 ③	R4.5.30	1.0	0.036 ± 0.003	0.68 ± 0.04	1.6	0.8	52.0	ND	0.027 ± 0.008	70.5 ± 0.5
B2 ④	R4.5.30	1.4	0.197 ± 0.013	3.83 ± 0.14	1.9	0.9	51.5	ND	ND	78.1 ± 0.6
B2 ⑤	R4.5.30	1.2	0.138 ± 0.010	2.44 ± 0.10	1.4	0.7	51.9	ND	0.019 ± 0.006	49.6 ± 0.4
測定値の範囲			0.036 ~ 0.197	0.41 ~ 4.60	1.3 ~ 1.9	0.6 ~ 0.9		ND	ND ~ 0.03	49.6 ~ 80.6
平均値			0.134	2.39	1.6	0.7		ND	0.026	70.9
人形峠周辺	R4.6.6	1.0	0.028 ± 0.003	1.11 ± 0.06	0.9	0.4	54.7	ND	0.031 ± 0.007	65.3 ± 0.5

表4 土壌の放射性核種及びF濃度の測定結果

エリア	採取年月日	密度 (g/cm <sup>3</sup> )	U-238 (Bq/kg乾)	Ra-226 (Bq/kg乾)	F (mg/kg乾)	Cs-134 (Bq/kg乾)	Cs-137 (Bq/kg乾)	K-40 (Bq/kg乾)
A1	R4.5.18	1.0	11.2 ± 0.8	29.5 ± 2.5	86	ND	3.23 ± 0.26	831 ± 11.2
A2	R4.5.18	1.0	14.6 ± 1.0	24.7 ± 2.3	120	ND	0.83 ± 0.25	803 ± 11.6
A3	R4.5.23	1.2	42.1 ± 2.8	99.4 ± 4.9	540	ND	ND	956 ± 11.4
B1	R4.5.16	0.9	19.3 ± 1.3	42.5 ± 3.0	210	ND	2.26 ± 0.27	669 ± 11.1
B2 ①	R4.5.30	1.2	19.4 ± 1.4	43.9 ± 3.1	160	ND	ND	841 ± 10.5
B3	R4.5.10	1.4	26.7 ± 1.6	61.1 ± 3.7	480	ND	ND	747 ± 9.2
C1	R4.5.16	0.7	9.7 ± 0.6	18.2 ± 2.0	120	ND	28.8 ± 0.68	299 ± 8.9
C2	R4.5.23	1.0	11.2 ± 0.7	23.0 ± 2.2	170	ND	2.95 ± 0.26	119 ± 5.5
測定値の範囲			9.7 ~ 42.1	18.2 ~ 99.4	86 ~ 540	ND	ND ~ 28.8	119 ~ 956
平均値			19.3	42.8	236	ND	7.62	658
人形峠周辺	R4.6.7	1.2	41.3 ± 2.8	82.8 ± 4.3	169	ND	ND	948 ± 11.2

放射性核種の濃度は、土壤の乾燥重量当たりの放射能濃度に換算（Bq/kg乾）し、F濃度は、土壤の乾燥重量当たりのF濃度に換算（mg/kg乾）した。

なお、放射線計測による測定結果は、測定値が計数誤差の3倍を超える場合を有意値とし、3倍以下の場合をND（不検出）と表記した。

土壤のU-238濃度は9.7～42.1 Bq/kg乾、Ra-226濃度は18.2～99.4 Bq/kg乾、F濃度は86～540 mg/kg乾、Cs-134濃度は全地点でND、Cs-137濃度はND～28.8 Bq/kg乾、K-40濃度は119～956 Bq/kg乾であった。

全エリア平均値と人形峠監視結果を比較すると、F、Cs-134、Cs-137及びK-40の濃度は特徴的な差は見られなかったが、U-238及びRa-226の濃度は人形峠周辺で全エリア平均値より高い傾向が見られた。これは、人形峠周辺はウラン鉱床が存在する地域であり、U-238及びその子孫核種であるRa-226が土壤中に比較的多く含まれるためであると考えられる。

各エリアの測定結果を比較すると、U-238及びRa-

226の濃度はA3エリア、F濃度はA3及びB3エリア、Cs-137濃度はC1エリアが全エリア平均値の2倍を超えていた。

R3調査で放射能濃度が特に高かったB2エリアの5個体の測定結果と、人形峠監視結果を表5に示す。

人形峠監視結果とB2エリア平均値を比較すると、いずれの項目も特徴的な差は見られなかった。

B2エリアの各個体間の結果を比較すると、F、Cs-134、Cs-137及びK-40の濃度は大きな差は見られなかったが、U-238及びRa-226の濃度で最大2倍程度の個体差が見られた。

次に、生育土壤と松葉に含まれる放射性核種及びF濃度の関係性を調べるため、土壤から松葉への移行係数（松葉中の各項目濃度/土壤中の各項目濃度）を算出した結果を表6に示す。

U-238は各エリアで9.7E-04～5.9E-03、人形峠周辺で6.8E-04、Ra-226は各エリアで3.3E-03～1.6E-02、人形峠周辺で1.3E-02であり、いずれの核種においても昨年

表5 土壤の放射性核種及びF濃度の測定結果（B2エリア）

エリア	採取年月日	密度 (g/cm <sup>3</sup> )	U-238 (Bq/kg乾)	Ra-226 (Bq/kg乾)	F (mg/kg乾)	Cs-134 (Bq/kg乾)	Cs-137 (Bq/kg乾)	K-40 (Bq/kg乾)
B2 ①	R4.5.30	1.2	19.4 ± 1.4	43.9 ± 3.1	160	ND	ND	841 ± 10.5
B2 ②	R4.5.30	1.0	28.2 ± 2.0	63.1 ± 3.7	140	ND	0.86 ± 0.22	914 ± 11.8
B2 ③	R4.5.30	0.9	28.9 ± 2.0	45.7 ± 3.1	190	ND	0.85 ± 0.19	417 ± 8.8
B2 ④	R4.5.30	0.9	22.3 ± 1.3	49.8 ± 3.4	140	ND	1.48 ± 0.25	908 ± 13.0
B2 ⑤	R4.5.30	1.1	42.2 ± 2.5	107.1 ± 5.2	190	ND	ND	1013 ± 12.1
測定値の範囲			19.4 ~ 42.2	43.9 ~ 107.1	140 ~ 190	ND	ND ~ 1.5	417 ~ 1013
平均値			28.2	61.9	164	ND	1.1	819
人形峠周辺	R4.6.7	1.2	41.3 ± 2.8	82.8 ± 4.3	169	ND	ND	948 ± 11.2

表6 移行係数（松葉濃度/土壤濃度）

エリア	採取年月日	移行係数（松葉濃度/土壤濃度）				
		U-238	Ra-226	F	Cs-137	K-40
A1	R4.5.18	2.2E-03	8.5E-03	6.5E-03	5.8E-03	8.9E-02
A2	R4.5.18	1.1E-03	6.1E-03	3.8E-03	-	7.8E-02
A3	R4.5.23	1.9E-03	6.0E-03	1.7E-03	-	8.4E-02
B1	R4.5.16	9.8E-04	5.6E-03	2.9E-03	5.6E-02	7.8E-02
B2 ①	R4.5.30	5.9E-03	9.3E-03	5.0E-03	-	9.6E-02
B3	R4.5.10	9.7E-04	3.3E-03	1.7E-03	-	9.2E-02
C1	R4.5.16	1.9E-03	9.9E-03	3.8E-03	1.9E-03	2.6E-01
C2	R4.5.23	2.7E-03	1.6E-02	4.5E-03	2.1E-02	5.0E-01
測定値の範囲		9.7E-04 ~ 5.9E-03	3.3E-03 ~ 1.6E-02	1.7E-03 ~ 6.5E-03	1.9E-03 ~ 5.6E-02	7.8E-02 ~ 5.0E-01
平均値		2.2E-03	8.1E-03	3.7E-03	2.1E-02	1.6E-01
人形峠周辺	R4.6.7	6.8E-04	1.3E-02	2.3E-03	-	6.1E-02

※ Fの松葉濃度は生換算値を適用



度と同程度であった。佐々木らの報告<sup>6)</sup>によると、一般的な農作物における移行係数はU-238で4.9E-06~3.6E-04, Ra-226で<7.8E-04~4.0E-03であり、松葉中におけるU-238及びRa-226の移行係数は一般的な農作物と比べてやや高い傾向であることが認められた。

また、参考に算出した土壌から松葉へのF, Cs-137及びK-40の移行係数は、Fは各エリアで1.7E-03~6.5E-03, 人形峠周辺で2.3E-03, Cs-137は各エリアで1.9E-03~5.6E-02, (人形峠周辺ではNDのため算出不可), K-40は各エリアで7.8E-02~5.0E-01, 人形峠周辺で6.1E-02であり、いずれも各エリアと人形峠周辺と同程度であった。

R3調査で放射能濃度が特に高かったB2エリアの5個体における土壌から松葉への移行係数を算出した結果を表7に示す。

U-238は1.2E-03~8.8E-03, Ra-226は5.6E-03~9.3E-03, Fは3.6E-03~6.5E-03, Cs-137は3.1E-02~3.9E-02, K-40は4.9E-02~1.7E-01であり、他のエリアや人形峠周辺と同程度で、個体差は軽微であった。

#### 4 まとめ

R4調査では、全エリア平均値と人形峠監視結果を比較すると、松葉ではRa-226濃度が、土壌ではU-238及びRa-226の濃度が人形峠周辺において各エリアより高い傾向が見られた。一方、各エリアの測定結果を比較すると、松葉ではU-238濃度がB2①エリアで、Ra-226濃度がA3エリアで特に高い値であった。また、土壌ではU-238及びRa-226の濃度がA3エリアで、F濃度はA3及びB3エリアで、Cs-137濃度がC1エリアで特に高かった。

R3調査で放射能濃度が特に高かったB2エリアの各個体間の結果を比較すると、U-238及びRa-226の濃度については、人形峠監視結果を上回る濃度が検出されるな

ど大きな個体差が見られた。

次年度も同様の方法により調査を進め、データの蓄積を行う。

#### 文 献

- 1) 中野拓也, 小川 登, 三宅和彰, 森上嘉亮: 人形峠周辺の環境放射線等測定に係る補完調査-松葉-(第1報), 岡山県環境保健センター年報, 46, 13-16, 2022
- 2) 原子力規制委員会: 放射能測定法シリーズ, <https://www.kankyo-hoshano.go.jp/library/series/> (2023.6.1アクセス)
- 3) 柳沢三郎: 植物体中のフッ化物の測定法の検討, 環境保健レポート, 8, 33-37, 1972
- 4) 環境庁企画調整局研究調整課: 環境測定分析参考資料-底質の測定分析
- 5) 原子力規制委員会: 日本の環境放射能と放射線, <https://www.kankyo-hoshano.go.jp/> (2023.6.1アクセス)
- 6) 佐々木朋三, 田代純利, 藤永英司, 石井友章, 軍司康義: 土壌から農作物へのウラン, トリウム, ラジウム及び鉛の移行係数と線量評価, 保健物理, 37(3), 208-221, 2002

表7 移行係数 (松葉濃度/土壌濃度) (B2エリア)

エリア	採取年月日	移行係数 (松葉濃度/土壌濃度)				
		U-238	Ra-226	F	Cs-137	K-40
B2 ①	R4. 5. 30	5. 9E-03	9. 3E-03	5. 0E-03	-	9. 6E-02
B2 ②	R4. 5. 30	6. 5E-03	6. 1E-03	4. 1E-03	3. 9E-02	8. 3E-02
B2 ③	R4. 5. 30	1. 2E-03	6. 0E-03	4. 2E-03	3. 1E-02	1. 7E-01
B2 ④	R4. 5. 30	8. 8E-03	5. 6E-03	6. 5E-03	-	8. 6E-02
B2 ⑤	R4. 5. 30	3. 3E-03	9. 3E-03	3. 6E-03	-	4. 9E-02
測定値の範囲		1. 2E-03 ~ 8. 8E-03	5. 6E-03 ~ 9. 3E-03	3. 6E-03 ~ 6. 5E-03	3. 1E-02 ~ 3. 9E-02	4. 9E-02 ~ 1. 7E-01
平均値		5. 1E-03	7. 3E-03	4. 7E-03	3. 5E-02	9. 7E-02
人形峠周辺	R4. 6. 7	8. 8E-03	7. 7E-02	2. 3E-03	-	6. 1E-02

※ Fの松葉濃度は生換算値を適用



【資料】

## 岡山県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向調査（令和4年度）

Epidemiological Study of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Okayama Prefecture (2022)

岡田達郎\*, 梶原知博, 河合央博

\*現 備北保健所

OKADA Tatsurou, KAJIHARA Tomohiro, KAWAI Hisahiro

### 要 旨

腸管出血性大腸菌（以下「EHEC」という。）感染症について、感染源や感染経路の究明により感染予防や感染拡大防止対策の構築の一助とすることを目的として、令和4年4月から12月までの期間に岡山県内で発生したEHEC事例の分離株を収集し、発生動向調査を実施した。収集した50株のO血清群は、O157が39株（78.0%）と最も多く、次いでO26が7株（14.0%）、O103、O128、O145及びO156が各1株（各2.0%）であった。O157及びO26の反復配列多型解析（以下「MLVA」という。）では、患者の疫学情報を基に家族内事例等グループ事例に分類された株は、MLVA型が一致した。また、グループ事例以外の複数の事例でもMLVA型が一致し、分子疫学的関連性が示唆された。薬剤感受性試験では、主要なEHEC感染症治療薬であるホスホマイシンに対する耐性株が2株確認されたことから、今後も継続的に耐性菌の動向を監視する必要があると考える。

[キーワード：腸管出血性大腸菌，発生動向調査，反復配列多型解析（MLVA），ホスホマイシン耐性]

[Key words : Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Epidemiological study,

Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA), Fosfomycin resistance]

## 1 はじめに

腸管出血性大腸菌（以下「EHEC」という。）感染症は、志賀毒素を産生する大腸菌による、激しい腹痛、水様性下痢、血便、嘔吐、発熱を主症状とする感染症である。重症化すると血小板減少、溶血性貧血、急性腎不全等の症状を示す溶血性尿毒症症候群（以下「HUS」という。）や脳症を併発し、死亡例も認められることから、特に食品衛生分野では注意が必要とされている。しかしながら、EHEC感染症の多くは散発的に発生するため、感染源や感染経路の特定は困難であり、食品の広域流通が進んだ現代では、自治体をまたぐ潜在的な集団発生（diffuse outbreak）も問題視されている。当センターではこれらの問題解決の一助とするため、県内で分離されたヒト由来EHEC株を収集し、性状試験、薬剤感受性試験及び反復配列多型解析（以下「MLVA」という。）法<sup>1)</sup>を用いた分子疫学解析等により、県内のEHEC感染症の発生動向調査を継続的に行っている。今回、令和4年4月から12月までの期間におけるEHECの発生動向調査を行ったので報告する。

## 2 材料及び方法

### 2.1 菌株及び疫学情報

令和4年4月から12月までの期間に県内で発生したEHEC患者61名のうち、保健所、医療機関及び民間検査機関において50名から分離されたEHEC株50株を収集し、解析対象とした。患者の疫学情報については、保健所から提供を受けた。

### 2.2 検査法

#### 2.2.1 血清型別試験

病原性大腸菌免疫血清「生研」（デンカ）を用いて血清型別試験を実施し、O血清群及びH血清型を決定した。また、市販血清で同定できなかった菌株の血清型別試験は、国立感染症研究所（以下「感染研」という。）に依頼した。

#### 2.2.2 志賀毒素遺伝子及びインチミン遺伝子検出試験

志賀毒素遺伝子（以下「*stx*」という。）及びインチミン遺伝子（以下「*eae*」という。）の検出は、井口らが報告した方法<sup>2)</sup>に準拠し、*stx1*、*stx2*及び*eae*の3種類の遺伝子を対象としたマルチプレックスPCR法により実施した。

### 2.2.3 *stx* サブタイプ型別試験

*stx* サブタイプ型別試験は、Scheutzらが報告した方法<sup>3)</sup>に準拠し、*stx1*は3種類 (*stx1a*, *stx1c*, *stx1d*), *stx2*は7種類 (*stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*) を型別するPCR法により実施した。

### 2.2.4 薬剤感受性試験

BD センシ・ディスク (日本ベクトン・ディッキンソン) を用い、Kirby-Bauer法により薬剤感受性試験を実施した。薬剤はアンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、セフメタゾール (CMZ)、セフトキシム (CTX)、セフェピム (CFPM)、イミペネム (IMP)、メロペネム (MEPM)、カナマイシン (KM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、ホスホマイシン (FOM)、ナリジクス酸 (NA)、ノルフロキサシン (NFLX)、レボフロキサシン (LVFX) 及びスルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST) の15種類を用いた。判定は、BD センシ・ディスクの基準に従った。

### 2.2.5 ホスホマイシン不活化酵素の検出

薬剤感受性試験の結果、FOMに耐性を示した菌株については、Nakamuraらが報告した方法<sup>4)</sup>に準拠し、ホスホマイシン不活化酵素 (以下「GST」という。) の阻害剤であるホスホノギ酸含有ディスクを用いたGST産生試験を実施した。

### 2.2.6 MLVA法による分子疫学解析

複数の株を収集したO26及びO157株について、感染研にMLVA法による解析を依頼し、反復配列17領域のそれぞれのリピート数、解析結果から付与される菌株の記号 (以下「MLVA型」という。) 及びリピート数が17領域中1遺伝子座で異なるSingle Locus Variant (SLV) 等の関連性が推測される型をまとめた様式であるcomplex (以下「MLVA complex」という。) の情報提供を受けた。また、食中毒調査支援システム (NESFD) 内の全国のMLVA情報を参考に、他県の検出状況と比較した。

## 3 結果及び考察

EHEC感染症の月別発生件数を図1に示した。発生件数は、7月の13件が最も多く、次いで8月の11件、11月の8件、12月の5件の順で、例年どおり夏季に多く検出されたが、令和4年は11月及び12月の秋季終盤から冬季初旬にかけても発生が続いた。

ヒト由来EHEC株の血清型、志賀毒素 (以下「Stx」という。) 型、*stx* サブタイプ及び*eae*の有無並びに患者の症状を表1に示した。O血清群別ではO157が39株

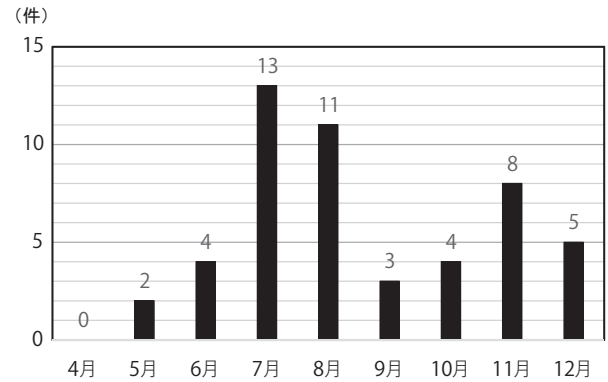


図1 岡山県におけるEHEC感染症の月別発生件数

(78.0%)で例年どおり最も多く<sup>5), 6)</sup>、次いでO26が7株 (14.0%), O103, O128, O145及びO156が各1株 (各2.0%)であった。Stx1型のサブタイプは、4株全てが*stx1a*であった。Stx2型のサブタイプは、24株のうち17株が*stx2a*+*stx2c*、6株が*stx2a*、1株が*stx2c*であった。Stx1&2型のサブタイプは、22株のうち14株が*stx1a*+*stx2a*、7株が*stx1a*+*stx2c*、1株が*stx1c*+*stx2b*であった。*eae*は、O26, O103, O145, O156及びO157の49株が保有しており、このうち30株 (61.2%)が有症者由来株であったが、*eae*非保有のO128の1株は無症状病原体保有者由来株であった。*eae*は腸管上皮細胞への接着を媒介するタンパク質であるインチミンをコードする病原性遺伝子であり、発症や重症化に関与すると考えられている<sup>7)</sup>。今回の調査では、*eae*非保有の株が1株と少ないため、*eae*保有株と非保有株の病原性の差異についての評価は困難であった。過去の我々の調査<sup>5), 6)</sup>と比較すると、今回の調査においても*eae*保有株の有症率は高いものと考えられ、病原性との関連が示唆された。

EHEC患者50名の内訳は、有症者が30名 (60.0%)、無症状病原体保有者が20名 (40.0%)であった。HUS、急性腎不全又は血便を呈した者 (以下「重症者」という。) は17名 (HUS+急性腎不全+血便: 1名, 急性腎不全+血便: 1名, 血便: 15名) で、有症者の56.7%に及んだ。また、血清型及び*stx*サブタイプの組合せで分類した場合の重症者は、O157:H7 (Stx2;*stx2a*+*stx2c*)、O157:H7 (Stx1&2;*stx1a*+*stx2a*)、O157:H7 (Stx1&2;*stx1a*+*stx2c*)、O157:H- (Stx1&2;*stx1a*+*stx2c*)、O26:H- (Stx2;*stx2a*) 及びO145:H- (Stx1;*stx1a*) で確認された。*stx*サブタイプと重症化の相関については、当センターのこれまでの調査で、*stx2a*保有株が他のサブタイプと比較して、関連が高い傾向が見られている<sup>6)</sup>。しかし、今回の調査では、*stx2a*の他、*stx1a*や*stx2c*といったサブタイプを保有するEHECでも重症例が確認されているため、引き



続き詳細な調査が必要であると考え。

薬剤感受性試験結果を表2に示した。15種類の薬剤のうち1剤以上に耐性を示した菌株は、50株のうち19株(38.0%)で、薬剤耐性率は令和2年度14.3%、令和3年度22.1%と比較して高い傾向にあった<sup>5), 6)</sup>。O血清群別での内訳は、O157は16株、O26は3株で、耐性を示し

た薬剤はTCが18株で最も多く、次いでCPが16株、STが15株、FOMが2株であった。FOM耐性の2株はO157で、株間に疫学的関連性が認められたことから、その耐性機構を探るためにGST産生試験を実施した。その結果、これらは共に陽性でGST産生によるFOM耐性であることが判明した。FOMは、NFLX、KM及び

表1 ヒト由来EHEC株の生物学的性状及び患者の症状

血清型	Stx型	stxサブタイプ	eae	株数	分離率(%)	症状			
						有症者数			無症状病原体保有者数
						有症者	重症者*	重症者/有症者(%)	
O157:H7	Stx2	stx2c	+	1	2.0	0	0	—	1
		stx2a+stx2c	+	17	34.0	10	6	60.0	7
	Stx1&2	stx1a+stx2a	+	14	28.0	9	6	66.7	5
		stx1a+stx2c	+	5	10.0	2	1	50.0	3
O157:H-	Stx1&2	stx1a+stx2c	+	2	4.0	2	2	100.0	0
O26:H11	Stx1	stx1a	+	1	2.0	1	0	0.0	0
	Stx2	stx2a	+	3	6.0	3	0	0.0	0
O26:H-	Stx2	stx2a	+	3	6.0	1	1	100.0	2
O103:H2	Stx1	stx1a	+	1	2.0	1	0	0.0	0
O128:H2	Stx1&2	stx1c+stx2b	-	1	2.0	0	0	—	1
O145:H-	Stx1	stx1a	+	1	2.0	1	1	100.0	0
O156:H25	Stx1	stx1a	+	1	2.0	0	0	—	1
計				50		30	17	56.7	20

\* 重症者: HUS、急性腎不全又は血便を呈した有症者とした。

表2 ヒト由来EHEC株の薬剤耐性 (O血清群別)

O血清群	株数	耐性株数	血清型	薬剤耐性パターン(株数)
O157	39	16	O157:H7	TC・CP・FOM・ST(2), TC・CP・ST(13), CP(1)
O26	7	3	O26:H11	TC(3)
O103	1	0		
O128	1	0		
O145	1	0		
O156	1	0		
計	50	19		

\* 「TC・CP・FOM・ST」はTC、CP、FOM及びSTの4剤に、「TC・CP・ST」はTC、CP及びSTの3剤に耐性を示すことを表す。

ニューキノロン系抗菌薬とともにEHEC感染症治療の第一選択薬の一つとされ、临床上極めて重要な抗菌薬である。これらの抗菌薬に対する耐性菌は、EHEC感染症の早期治療に支障をきたすだけでなく、感染拡大防止にも影響を及ぼす可能性がある。当県では、過去にも少数ではあるがFOM耐性EHEC株を検出し<sup>10)</sup>、また、他県での検出事例も報告されていることから<sup>8), 9)</sup>、その広がり懸念される。そのため、今後も継続して調査を行い、動向に注視する必要があると考える。

O157及びO26のEHEC事例のMLVA法による分子疫学解析結果を表3に示した。EHEC事例31件の内訳は、家族内事例等グループ事例が12件(O157:11件, O26:1件)、散発事例19件(O157:15件, O26:4件)であった。収集したO157の39株のMLVA型は24種類に、O26の7株は3種類に分類された。グループ事例では、

各事例内の菌株間でそれぞれMLVA型が一致したことから、各事例とも同一由来株によるものと推定された。一方で、事例番号①の散発事例と事例番号②のグループ事例ではMLVA型22m0119(クラスターI)、事例番号⑮のグループ事例と事例番号⑯及び⑰の散発事例ではMLVAcomplex22m072(MLVA型22m0335及び22m0005)(クラスターII)、そして事例番号⑳、㉑及び㉒の散発事例3件ではMLVA型22m2113(クラスターIII)と異なる事例間でMLVA型又はMLVAcomplexが一致し、事例間(患者間)の疫学情報に明確な関連性が認められないにもかかわらず、分子疫学的関連性が示された。また、8種類のMLVA型20m0185(事例番号⑪)、22m0071(事例番号⑬)、22m0337(事例番号⑱)、22m0273(事例番号㉑)、19m0149(事例番号㉒)、22m2099(事例番号㉓)、22m2113(事例番号㉕、㉖、㉗)及び22m0529(事例番号

表3 O157及びO26事例の分子疫学解析結果

事例番号	発生日	事例	管轄保健所	血清型	Stx型	患者数	MLVA型 (MLVAcomplex)	他県での 同一MLVA型 検出状況
①	5月	散発事例	F	O157:H7	Stx1&2	1	22m0119	
②	5~6月	グループ事例	F	O157:H7	Stx1&2	3	22m0119	クラスター I
③	6月	散発事例	E	O157:H-	Stx1&2	1	22m0120	
④	6月	散発事例	E	O157:H7	Stx2	1	22m0121	
⑤	7月	散発事例	E	O157:H7	Stx2	1	19m0428	
⑥	7月	グループ事例	B	O157:H7	Stx2	2	22m0177	
⑦	7月	グループ事例	F	O157:H7	Stx1&2	3	22m0178 (22c023)	
⑧	7月	散発事例	D	O157:H7	Stx1&2	1	22m0179	
⑨	7月	散発事例	C	O157:H7	Stx1&2	1	22m0180	
⑩	7月	散発事例	F	O157:H7	Stx2	1	22m0240	
⑪	7月	散発事例	F	O157:H7	Stx2	1	20m0185 (21c011)	有
⑫	7~8月	グループ事例	E	O157:H7	Stx2	2	22m0241	
⑬	8月	散発事例	E	O157:H7	Stx1&2	1	22m0071 (22c011)	有
⑭	8月	グループ事例	E	O157:H7	Stx2	2	22m0334	
⑮	8月	グループ事例	A	O157:H7	Stx2	2	22m0335 (22c072)	
⑯	8月	散発事例	E	O157:H7	Stx2	1	22m0335 (22c072)	クラスター II
⑰	12月	散発事例	E	O157:H7	Stx2	1	23m0005 (22c072)	
⑱	8月	散発事例	E	O157:H-	Stx1&2	1	22m0336	
⑲	8月	グループ事例	F	O157:H7	Stx2	2	22m0337	有
⑳	8月	グループ事例	F	O157:H7	Stx1&2	2	22m0338	
㉑	9月	グループ事例	F	O157:H7	Stx1&2	2	22m0273	有
㉒	10月	散発事例	E	O157:H7	Stx1&2	1	19m0149 (22c002)	有
㉓	10月	散発事例	C	O26:H11	Stx1	1	22m2099	有
㉔	10~11月	グループ事例	E	O26:H-	Stx2	3	13m2013	
㉕	10月	散発事例	F	O26:H11	Stx2	1	22m2113 (22c209)	有
㉖	11月	散発事例	F	O26:H11	Stx2	1	22m2113 (22c209)	有
㉗	12月	散発事例	F	O26:H11	Stx2	1	22m2113 (22c209)	有
㉘	11月	グループ事例	F	O157:H7	Stx2	2	22m0529 (22c070)	有
㉙	11月	散発事例	E	O157:H7	Stx1&2	1	22m0530	
㉚	11~12月	グループ事例	C	O157:H7	Stx1&2	2	22m0531	
㉛	12月	散発事例	E	O157:H7	Stx1&2	1	22m0578	

号⑳) は他県でも検出されており、広域流行の可能性が考えられた。特に、O26 (Stx2) のMLVA型22m2113 (MLVAcomplex22c209) は、令和5年3月27日時点で、令和4年9月から令和5年3月の長期間にわたり15自治体(都道府県数)で全国広域に検出されたが、当県事例との関連性は不明であった。その他のMLVA型の中には当県を含めた近隣県でのみ検出された型も認められ、地域特異的な共通の感染源が疑われた。

集団事例や広域的な食中毒事案の早期探知と原因調査には、自治体や保健所等の関係機関が情報を迅速に共有することが重要である。当センターでは、収集したヒト由来EHEC株の分子疫学解析結果等を迅速に保健所等関係機関へ還元し、事例間の関連性等の疫学調査サポートしている。今後も感染拡大防止や感染予防のため分子疫学解析を継続し、県内だけでなく広域的な事例も含め、感染源や感染経路を解明していくことが重要であると考える。

## 謝 辞

本調査の実施に際して、MLVA法による解析をお願いしました国立感染症研究所の泉谷秀昌先生、伊豫田淳先生、そして菌株の分与にご協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Izumiya H, Pei Y, Terajima J, Ohnishi M, Hayashi T et al. : New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups : O157, O26, and O111, *Microbiol. Immunol.*, 54, 569-577, 2010
- 2) 井口 純, 秋吉充子, 伊豫田淳, 大西 真 : 腸管出血性大腸菌の主要なO血清群と病原性遺伝子を判定するOne-shotマルチプレックスPCR法の開発と評価, *日本食品微生物学会雑誌*, 32 (4), 215-218, 2015
- 3) Scheutz F, Teel L D, Beutin L, Piérard D, Buvens G et al. : Multicenter Evaluation of a Sequence-Based Protocol for Subtyping Shiga Toxins and Standardizing Stx Nomenclature, *J. Clin. Microbiol.*, 50 (9), 2951-2963, 2012
- 4) Nakamura, G., Wachino, J., Sato, N., Kimura, K., Yamada, K. et al. : Practical Agar-Based Disk

Potentiation Test for Detection of Fosfomycin Nonsusceptible *Escherichia coli* Clinical Isolates Producing Glutathione S-Transferases, *J. Clin. Microbiol.*, 52, 3175-3179, 2014

- 5) 岡田達郎, 河合央博, 中嶋 洋, 狩屋英明 : 岡山県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向調査(令和3年度), *岡山県環境保健センター年報*, 46, 43-48, 2022
- 6) 岡田達郎, 河合央博, 中嶋 洋, 狩屋英明 : 岡山県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向調査(令和2年度), *岡山県環境保健センター年報*, 45, 29-34, 2021
- 7) 仲西寿男, 丸山務監修 : 食品由来感染症と食品微生物, 281-296, 中央法規, 2009
- 8) 北川恵美子, 小坂 恵, 加藤真美, 木村恵梨子, 崎田敏晴 : 2007~2015年に石川県で分離された腸管出血性大腸菌について - O26, O111の発生状況及び細菌学的性状 -, *石川県保健環境センター研究報告書*, 53, 25-29, 2016
- 9) 津曲洋明, 水流奈己, 阿波野祥司, 吉野修司, 元明秀成 : 宮崎県で分離された腸管出血性大腸菌(EHEC) O26, O157の薬剤感受性と分子生物学的解析, *宮崎県衛生環境研究所年報*, 29, 59-64, 2017
- 10) 河合央博, 仲 敦史, 畑ますみ, 中嶋 洋 : 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査(平成28年度), *岡山県環境保健センター年報*, 41, 51-57, 2017



## 【資 料】

## 結核菌DNA解析調査事業報告（令和元年度～3年度）

Report of DNA Analysis of *Mycobacterium tuberculosis* in Okayama Prefecture  
(Fiscal Years 2019～2021)

梶原知博, 岡田達郎\*, 河合央博

\*現 備北保健所

KAJIHARA Tomohiro, OKADA Tatsuro\*, KAWAI Hisahiro

## 要 旨

本県では、結核の感染源、感染経路の究明及び二次感染予防等結核対策に資するため、県内の新登録結核患者から分離された結核菌の分子疫学解析を実施している。今回、令和元年度～3年度の3年間に収集した患者由来株176株についてVariable number of tandem repeats (VNTR) 解析法によりクラスター解析を行った。その結果14組のクラスターが形成されたが、そのうち調査等で疫学的関連性が確認できたのは7組であった。また、収集した菌株の遺伝系統分布では、北京型が116株と全体の65.9%を占め、その中で若年層において、新興型が高く分離される傾向が示された。一方で、今回、70代以上の高齢者における新興型の割合が前回の調査（平成28年度～30年度）時より増加（11.7%→18.3%）した。今後の結核対策として、若年層だけでなく高齢者の新興型の発生状況にも注視する必要があると考えられた。

[キーワード：結核菌, VNTR解析, 疫学, 北京型]

[Key words : *Mycobacterium tuberculosis*, VNTR analysis, epidemiology, Beijing type]

## 1 はじめに

結核は、結核菌群 (*Mycobacterium tuberculosis* complex ただし *Mycobacterium bovis* BCG を除く) による感染症で、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律において二類感染症に分類される。令和3年、国内の結核り患率（人口10万人当たりの新登録結核患者数）が9.2と初めて10人を下回り<sup>1)</sup>、結核低まん延国の水準に達した。しかしながら、近年減少傾向は見られるものの、令和3年の国内新登録結核患者数は11,591人、本県では183人と、患者数は他の感染症と比べて多く、結核はわが国において注意を要する主要な感染症の一つであることは変わらない。

本県では、結核の感染源・感染経路の究明や二次感染予防等、結核対策に資することを目的に「結核菌DNA解析調査事業実施要領」を定め、県内で分離された患者由来株を収集し、Variable number of tandem repeats（以下「VNTR」という。）解析法を用いた分子疫学調査を継続して行っている。

今回、令和元年度～3年度の収集株を対象に疫学情報と併せたクラスター解析を行い、県内の流行状況等調査を行ったので報告する。また、併せて遺伝系統解析を行ったので報告する。

## 2 材料及び方法

## 2.1 解析対象株

県内の医療機関又は検査機関において分離された結核菌のうち、令和元年度～3年度に収集した176株を対象に解析を行った。菌株の患者年齢階層別・男女別菌株数を表1に示す（年齢分布：20歳～105歳、平均年齢：75.2歳）。また、患者の疫学情報については、保健所から提供を受けた。

## 2.2 菌株からのDNA抽出

DNA抽出は、結核菌VNTRハンドブック（地方衛生研究所全国協議会 保健情報疫学部会 マニュアル作成ワーキンググループ編 第一版）の「菌懸濁液の加熱死菌上清の作成方法」に準じて行った。

表1 年齢階層別・男女別菌株数

年齢	男		女		計	
	株数	%	株数	%	株数	%
20代	9	9.2%	5	6.4%	14	8.0%
30代	1	1.0%	3	3.8%	4	2.3%
40代	2	2.0%	5	6.4%	7	4.0%
50代	5	5.1%	2	2.6%	7	4.0%
60代	9	9.2%	3	3.8%	12	6.8%
70代	16	16.3%	14	17.9%	30	17.0%
80代	36	36.7%	22	28.2%	58	33.0%
90代以上	20	20.4%	24	30.8%	44	25.0%
計	98		78		176	



### 2.3 VNTR解析及びクラスター解析

VNTR解析は、国内標準法として提唱されているJATA(12)-VNTR解析法<sup>2)</sup>、さらに、JATA(12)-VNTRの型別能力を補うために、JATA(12)-VNTRに加えられたJATA(15)-VNTR解析法と3つの多型性に富んだ超多変(Hypervariable, HV)領域を解析するVNTR解析法を加えた計18領域で行った<sup>3), 4)</sup>。PCR法により各領域の増幅を行い、アガロースゲル電気泳動法により得られた増幅産物のサイズから各領域のリピート数を決定し、18領域のリピート数の組み合わせを遺伝子型(以下「VNTR型」という。)とした。クラスター解析は、解析ソフトBioNumerics ver 7.6 (APPLIED MATHS)を用い、VNTR型が完全に一致した株を同一クラスターとした。また、収集菌株全体の関連を可視的にとらえるため同ソフトを用いてMinimum spanning treeを作成した。

### 2.4 遺伝系統分類解析

各菌株の遺伝系統分類は、Setoらの方法<sup>5)</sup>に従い、VNTR型から最大事後確率推定法(MAP推定法)を用いて、北京型(祖先型, 新興型)及び非北京型を推定した。

## 3 結果及び考察

今回、令和元年度～3年度に収集した176株についてクラスター解析を実施した結果、14組のクラスターA～Nが形成され、30株が分類された(クラスター形成率17.0%) (表2, 図1)。これらのクラスターはいずれもVNTR型が一致した菌株が2株又は3株ずつ分類された小さなクラスターであり、今回の収集株からは大きな集団発生や県内で流行している株の傾向は示されなかった。

クラスターのうち7組のクラスターA, B, F, I, J, L及びMには、家族や同一施設利用者等、保健所の疫学調査で患者間の関連性が把握された事例がそれぞれ別のクラスターとして分類された。結核菌株のVNTR解析は、疫学調査で感染が疑われた事例で患者由来株間の遺伝子型が一致した場合、その関連性の証明や科学的裏付けとなり得るが、今回の結果からもこのことが示された。一方で、その他の7組のクラスターC, D, E, G, H, K及びNに分類された事例では、患者間の関連性は不明であった。網羅的に菌株を収集しサーベイランスとして実施するVNTR解析では、その解析結果(VNTR型の一致)を基に追加疫学調査を実施することで、新たな感染経路や伝播様式が発見されることも期待され、また、流行株や集団感染等の早期探知にも有用になる。そのため、今後も継続して結核菌のVNTR解析を行い、解析結果や流行状況を迅速に保健所へ情報提供することが重

要と考える。

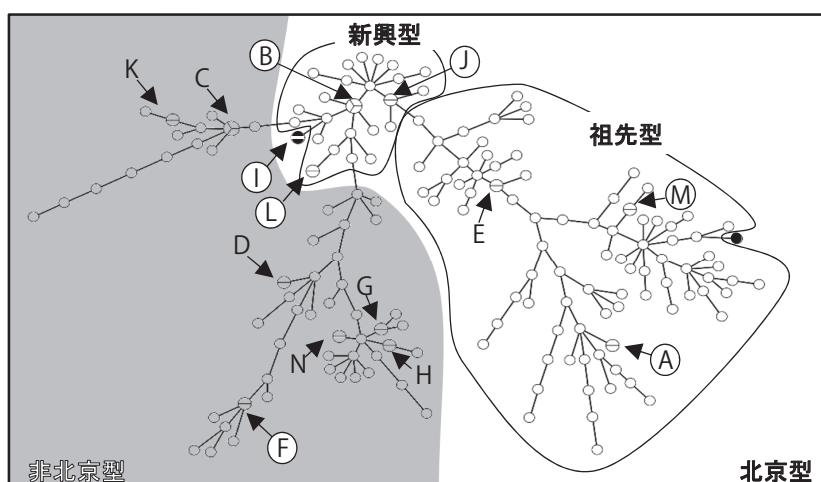
収集株176株について遺伝系統分類解析を実施した結果、北京型は116株(65.9%)、非北京型は59株(33.5%)、推定不能が1株(0.6%)で、北京型の内訳は、祖先型が86株(74.1%)、新興型が28株(24.1%)、推定不能が2株(1.7%)であった(図2)。また、年齢階層別の祖先型と新興型の割合では、特に20代で新興型が62.5%と他の年代に比べて高かった(図3)。結核菌では、遺伝系統の割合は地域によって異なる。わが国では北京型が7～8割を占めると言われており<sup>6)</sup>、今回の結果でもおおむね同様な傾向が見られた。また、北京型は感染伝播力が強く、薬剤耐性との関連性が高いことが報告されている<sup>7)</sup>。今回のクラスター解析では、疫学的関連性が確認された7事例(クラスターA, B, F, I, J, L及びM)の遺伝系統を調べると、5事例(71.4%)が北京型であり、北京型の感染伝播力の強さを裏付ける結果であった。

諸外国における北京型の祖先型及び新興型の分離状況は、新興型が7割以上占めているのに対し、わが国の特徴としては祖先型が8割程度を占めるものの<sup>6)</sup>、若年層では新興型の割合が高いことが挙げられる<sup>8)</sup>。新興型は祖先型よりも感染伝播力が強く発病しやすいと言われ<sup>7)</sup>、さらには集団感染に関与する遺伝系統であることが示唆されている。今回の結果では、本県でも20代の新興型の割合が高かった。一方で、今回、70代以上の高齢者における新興型の割合が前回の調査<sup>9)</sup>(平成28年度～平成30年度)時より増加(11.7%→18.3%)した。また、70代以上の高齢者を含む新興型のクラスターが3事例(クラスターB, J及びL)認められた。高齢者結核の大部分は、結核高まん延期の青年時代に感染した結核の内因性再燃とされる<sup>10)</sup>が、今回、高齢者が新たに新興型に感染した可能性も否定できない。

国内の結核罹患率は低下し、低まん延国になったが、その一方で、り患率や新興型の分離比率が高い近隣アジア諸国からの流入等を背景とした、新興型の分離やクラスターの割合が増加することが懸念されている。このことから、今後の結核対策として、若年層だけでなく高齢者の新興型の発生状況にも注視する必要があると考えられた。

表2 クラスター解析結果

クラスター	菌株No.	年齢	性別	検体採取年月	居住地(市町村)	疫学情報等	遺伝系統
A	1876	80代	男	2019年2月	同一市町村	家族	北京型祖先型
	1888	60代	男	2019年3月			
B	1879	60代	男	2019年1月	同一市町村	同一施設利用者	北京型新興型
	1919	80代	男	2019年6月			
C	1920	50代	男	2019年9月	同一市町村	散発	非北京型
	1885	80代	男	2018年12月			
	1946	90代以上	女	2020年3月			
D	2051	80代	男	2021年9月	隣接する市町村	散発	非北京型
	1886	90代以上	男	2019年1月			
E	1894	80代	女	2018年11月	隣接する市町村	散発	北京型祖先型
	1897	20代	女	2019年5月			
F	2037	50代	男	2021年8月	同一市町村	同一施設利用者	非北京型
	1924	90代以上	男	2019年8月			
G	1927	90代以上	女	2019年12月	隣接する市町村	散発	非北京型
	1933	90代以上	男	2019年10月			
H	1938	90代以上	女	2019年5月	同一市町村	散発	非北京型
	1934	90代以上	男	2019年8月			
I	2016	70代	女	2021年3月	同一市町村	家族	推定不能
	1961	50代	女	2020年5月			
J	1962	80代	女	2020年5月	同一市町村	家族	北京型新興型
	1991	80代	女	2020年7月			
K	1992	90代以上	男	2020年4月	同一市町村	散発	非北京型
	1994	50代	男	2020年10月			
L	2002	50代	男	2021年2月	同一市町村	家族	北京型新興型
	1995	80代	男	2020年10月			
M	2000	70代	女	2021年1月	同一市町村	家族	北京型祖先型
	2001	70代	女	2021年1月			
N	2031	70代	男	2021年6月	同一市町村	散発	非北京型
	2038	80代	男	2021年9月			
	2043	80代	男	2021年9月			



●及び○は推定不能を示す。  
A～Nはクラスターを示す。また、囲い文字は疫学的関連性が確認されたものを示す。

図1 クラスター解析結果

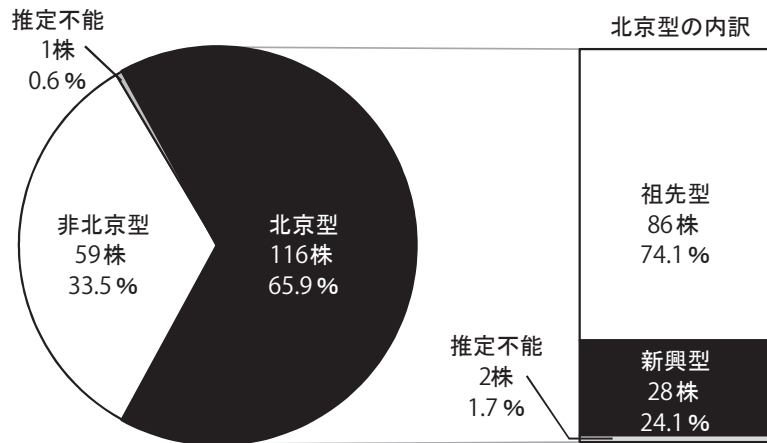


図2 遺伝系統分類解析

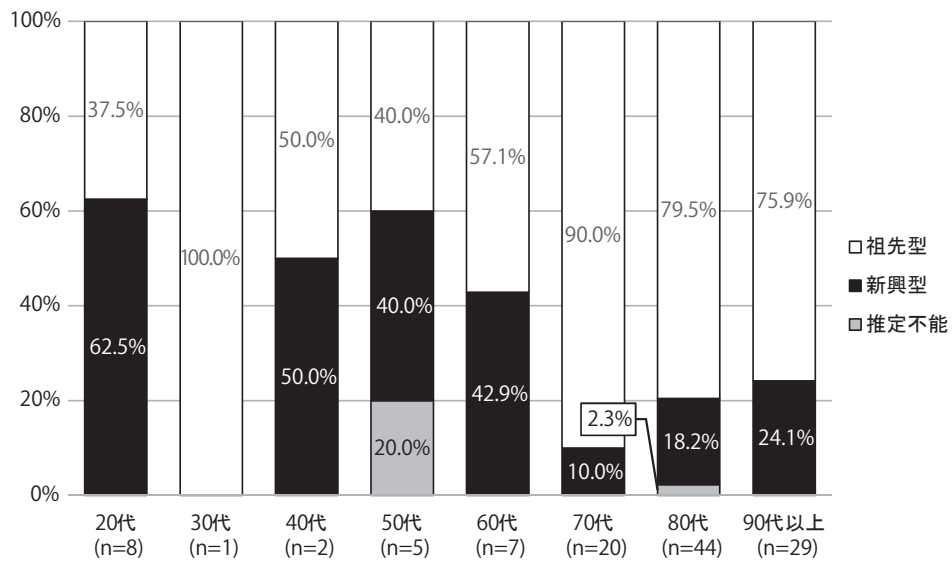


図3 年齢階級別北京型株における祖先型と新興型の割合



## 文 献

- 1) 厚生労働省：2021年 結核登録者情報調査年報集計結果について，  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000175095\\_00007.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000175095_00007.html) (2023.5.17アクセス)
- 2) 前田伸司，村瀬良朗，御手洗 聡，菅原 勇，加藤 誠：国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム，結核，83，673-678，2008
- 3) 和田崇之，長谷 篤：結核菌の縦列反復配列多型性 (VNTR) 解析に基づく分子疫学とその展望，結核，85，845-852，2010
- 4) 前田伸司，和田崇之，岩本朋忠：国内結核菌を効率よく型別するための標準反復配列多型 (VNTR) 分析法，日本細菌学雑誌，65，201，2010
- 5) Junji Seto, Takayuki Wada, Tomotada Iwamoto, Aki Tamaru, Shinji Maeda, et al. : Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation, Infect. Gene. Evol., 35, 82-88, 2015
- 6) 岩本朋忠：結核菌分子疫学研究の将来展望，結核，84，789-791，2009
- 7) Hanekom M, van der Spuy GD, Streicher E, Ndabambi SL, McEvoy C. R. E, et al. : A Recently evolved sublineage of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain family is Associated with an increased ability to spread and cause disease, J. Clin. Microbiol., 45, 1483-1490, 2007
- 8) Iwamoto T, Fujiyama R, Yoshida S, Wada T, Shirai C, et al. : Population structure dynamics of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains during past decades in Japan, J. Clin. Microbiol., 47, 3340-3343, 2009
- 9) 河合央博，森本晃司，仲 敦史，中嶋 洋，狩谷英明：結核菌DNA解析調査事業報告（平成28～30年度）岡山県環境保健センター年報，43，93-97，2019
- 10) 岩本朋忠：結核菌北京型ファミリーの集団遺伝学的解析から推察される日本国内定着型遺伝系統群の存在と遺伝系統別薬剤耐性化傾向の違い，結核，84，755-759，2009



【資 料】

## 岡山県における SARS-CoV-2 の次世代シーケンサーによる 全ゲノム解析調査 (2022-2023)

Whole Genome Analysis Survey of SARS-CoV-2  
with Next Generation Sequencer in Okayama Prefecture (2022-2023)

土本祐栄, 岡本尚子, 石井 学, 池田和美, 船橋圭輔,  
濱野雅子, 平田真弓, 鶴海 剛, 木田浩司, 木下浩行\*

\*岡山県感染症情報センター

TSUCHIMOTO Sachie, OKAMOTO Naoko, ISHII Manabu, IKEDA Kazumi,  
FUNAHASHI Keisuke, HAMANO Masako, HIRATA Mayumi,  
TSURUMI Go, KIDA Kouji, KINOSHITA Hiroyuki\*

### 要 旨

2022年4月から2023年2月までに採取されたSARS-CoV-2陽性検体の全ゲノム解析を実施し、GISAIDに登録した検体1,464件について、Nextstrain Clade及びPANGO系統による分類を行い、2022年1月以降に県内で主流行変異株となったオミクロン株の流行状況について解析した。21K (BA.1系統及びその亜系統) は今回の調査期間直前に大勢を占めていたが、2022年2月に初検出された21L (BA.2系統及びその亜系統) が急増して5月にはほぼ全て置き換わった。その後2022年6月に初検出された22B (BA.5系統及びその亜系統) が急増して8月にはほぼ全て置き換わり、22E (BA.5系統の亜系統) は10月に初検出された後、全体の10%程度まで増加した。こうした県内の流行状況は、全国とほぼ同様の傾向を示していた。また、スパイク蛋白質のアミノ酸置換変異について、感染性への影響が示唆されている変異を有する株の割合と流行との関連性について解析した。BA.5系統及びその亜系統 (22B及び22E) のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸におけるR346, K444又はN460に変異を有する株が増加した時期と、第8波の感染拡大の時期がほぼ一致していたことから、これらの変異が県内の第8波の感染拡大に関与したと推察された。

[キーワード : SARS-CoV-2, 次世代シーケンサー, 全ゲノム解析, オミクロン, アミノ酸置換変異]

[Key words : Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, Next generation sequencer,  
Whole genome analysis, Omicron, Amino acid substitution mutation]

### 1. はじめに

新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus Disease 2019 : COVID-19) は、2019年12月に中国湖北省武漢市で世界初の患者が確認された<sup>1)</sup>、咳、高熱、肺炎等を主症状とする新興感染症で、2020年1月以降世界各地で感染が拡大している。岡山県では2020年3月に初めての感染者が確認されて以降<sup>2)</sup>、2023年2月までに第1波から第8波の流行があり、48万人を超える感染者が報告されている<sup>3)</sup>。

本感染症の起因病原体は、コロナウイルス科ベータコロナウイルス属のSevere Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (以下「SARS-CoV-2」という。) で、約3万塩基のプラス鎖RNAゲノムを有している。ゲノムは、5'側に非構造蛋白質の遺伝子、3'側にスパイク (S)、

エンベロープ (E)、マトリックス (M)、ヌクレオキャプシド (N) などの各構造蛋白質の遺伝子をコードしており、世界保健機関 (以下「WHO」という。) は、ゲノムに生じた突然変異の蓄積をPANGO系統に分類することで変異株の呼称を定義している。我が国では、これまでにB.1.1.7系統のアルファ株、B.1.617.2系統のデルタ株など、数多くの変異株が流行してきたが、2022年2月をピークとする第6波からはB.1.1.529系統のオミクロン株とその亜系統が主流となっている<sup>4)</sup>。

SARS-CoV-2は、世界中の研究機関等でゲノム解析による変異株の監視が継続されており、2023年1月9日時点において、WHO及び国立感染症研究所は、いずれもB.1.1.529系統のオミクロン株を起源とした亜系統の全てを懸念される変異株 (VOC : Variant of concern) に指

定している。また、WHOでは、このうちいくつかの亜系統や組換え体（BA.2.3.20系統、BA.4.6系統、BA.2.75系統、XBB系統及びBA.5系統（スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460の少なくともいずれか1箇所に変異を有する株）を「監視下のオミクロン株の亜系統（Omicron subvariants under monitoring）」（以下「OSUM」という。）として注目している<sup>5)</sup>。

当センターでは、厚生労働省が示す「新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株PCR検査について（要請）」（令和3年（2021年）2月5日付け、健感発0205第4号）に基づき、次世代シーケンサー（Next Generation Sequencer）を用い、2020年3月から県内感染者の検体を対象に全ゲノム解析を実施し、変異株の流行状況について監視している。昨年度の年報<sup>6)</sup>では、2022年3月までのデータを解析し、2021年5月をピークとする第4波でアルファ株、8月をピークとする第5波でデルタ株、2022年2月をピークとする第6波でオミクロン株がそれぞれ主流変異株として置き換わってきたことを報告した。

今回我々は、2022年1月以降に県内で主流変異株となったオミクロン株について、Nextstrain Clade（以下「Clade」という。）及びPANGO系統によって分類し、流行状況を解析した結果を報告する。また、SARS-CoV-2のスパイク蛋白質の変異の一部は、感染性、病原性、ワクチンの有効性等に影響があるとされていることから、OSUMのうち、BA.5系統及びその亜系統（スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460の少なくともいずれか1箇所に変異を有する株）の流行についても解析したので併せて報告する。

## 2 対象及び方法

### 2.1 解析対象

2022年4月から2023年2月までに採取された県内のSARS-CoV-2陽性検体について、全ゲノム解析を実施した。このうち、国際的なSARS-CoV-2ゲノム情報データベースのGlobal Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID) に登録した1,464件を今回の解析対象とした。

### 2.2 ゲノムの解読

国立感染症研究所の新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル（Qiagen社QiaSEQ FX 編）に従ってゲノムの塩基配列を決定した。得られた塩基配列について、

Nextclade解析プログラムVer.2.14.0 (<https://clades.nextstrain.org/>) 及びPangolin系統解析プログラムVer.4.2 (<https://pangolin.cog-uk.io/>) を用い、それぞれClade及びPANGO系統による分類を行った。

### 2.3 県内の流行変異株の解析

2.2で得られたClade及びPANGO系統について採取月別に集計し、解析を行った。

### 2.4 県内のSARS-CoV-2感染状況

県内の医療機関等から届出があったSARS-CoV-2感染者数のうち、2022年4月から2023年2月までに公表されたものを月別に集計した。

### 2.5 流行株におけるアミノ酸置換変異の解析

検出したBA.5系統及びその亜系統のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460のいずれかの箇所に変異を有する株について、Clade及びPANGO系統で分類した。また、これらの変異を有する株の検出割合の推移と流行拡大との相関性について解析した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 県内の流行株の推移

今回の調査期間におけるClade及びPANGO系統で分類した変異株の集計結果の推移を表1に、各Cladeの検出割合の推移を図1にそれぞれ示す。昨年報告した調査結果<sup>6)</sup>を併せてCladeの流行の推移をみると、2021年12月に初めて検出された21K（BA.1系統及びその亜系統）は、2022年1月～3月の流行の主体であったが、2月に初めて検出された21L（BA.2系統及びその亜系統）が急増し、今回の調査を開始した4月には全体の80%を占め、5月には21Kからほぼ置き換わった。2022年6月には22A（BA.4系統及びその亜系統）及び22B（BA.5系統及びその亜系統）が相次いで検出されたが、22Aの検出数は伸びず、7月を最後に検出されなくなったのに対し、22Bは急増して8月にはほぼ全て置き換わり、その後も高い割合で検出された。2022年10月に初めて検出された22E（BA.5系統の亜系統）は、2023年1月には全体の10%程度まで増加し、2月にも同程度検出された。また、2022年6月～8月に22C（BA.2系統の亜系統）、7月及び11月～2023年1月に22D（BA.2系統の亜系統）、2022年12月に21Lがそれぞれ少数検出されたほか、8月、10月、12月及び2023年1月には異なる系統間の組換え体であるXAZ、XBB、XBF系統がそれぞれ少数検出された。こうした変異株の県内流行の推移は、全国とほぼ同様の傾向<sup>4)</sup>を示していた。

今回の調査期間におけるCladeごとの集計結果をみると、22Bの1,021株が最も多く、次いで21Lが353株検出され、これらが全体の90%以上を占めた(表1)。このうち22Bに属するPANGO系統は、BA.5.2系統、BA.5.2.1系統、BF.5系統が多く検出されており、これも全国と同様の傾向であった<sup>4)</sup>。

### 3.2 流行株におけるアミノ酸置換変異の解析

検出したBA.5系統及びその亜系統(22B及び22E)のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸においてN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460のいずれかの箇所に変異を有する株について、それぞれClade及びPANGO系統で分類した集計結果を表2に示す。表1の集計結果を踏まえて22Bと22Eを比較すると、検出数が多い22Bの方が変異を有する株が多いもののその割合は低く、一方22Eは43株全てで少なくとも1箇所に変異を有していた。変異部位別にみると、22BではK444にM、N、R又はTへの異なる変異を有する株が認められたが、22EではK444T変異を有する株のみが認められた。同様にR346、N460についても、22Bでは異なる変異を有する株が認められたが、22EではR346T変異及びN460K変異又はそのいずれかの変異を有する株のみが認められた。

22Bに属するPANGO系統に着目すると、検出数が多

かったBA.5.2系統、BA.5.2.1系統及びBF.5系統には、ほとんど変異がみられず、BA.5.2系統の1株にK444N変異、BF.5系統の1株にN460S変異が認められたのみであった。また、PANGO系統では、BA.5.2.55系統、BA.5.2.6系統、BF.7.15系統、BF.7.4.1系統など、2022年11月以降の検出株に変異を有するものが多く認められた。

検出したBA.5系統及びその亜系統のうち、スパイク蛋白質のアミノ酸におけるN450D変異を有する株及びR346、K444、V445又はN460のいずれかの箇所に変異を有する株の割合と感染者数の推移を図2に示す。R346のT、S又はIへの変異を有する株の割合は、2022年10月は10%程度であったが、12月以降激増し、2023年2月には60%を占めた。次いで、K444のM、N、R又はTへの変異を有する株の割合は、2022年10月以降徐々に増加し、またN460のK又はSへの変異を有する株の割合も10月以降増加傾向を示した。N450D変異を有する株については、2022年10月、12月及び2023年1月にそれぞれ1株、V445A変異を有する株については、2022年8月に1株検出されたのみであった。

今回の調査期間においては、県内では2022年8月をピークとする第7波と2022年12月をピークとする第8波の2回の流行が認められ、これは全国と同様であった<sup>7)</sup>。

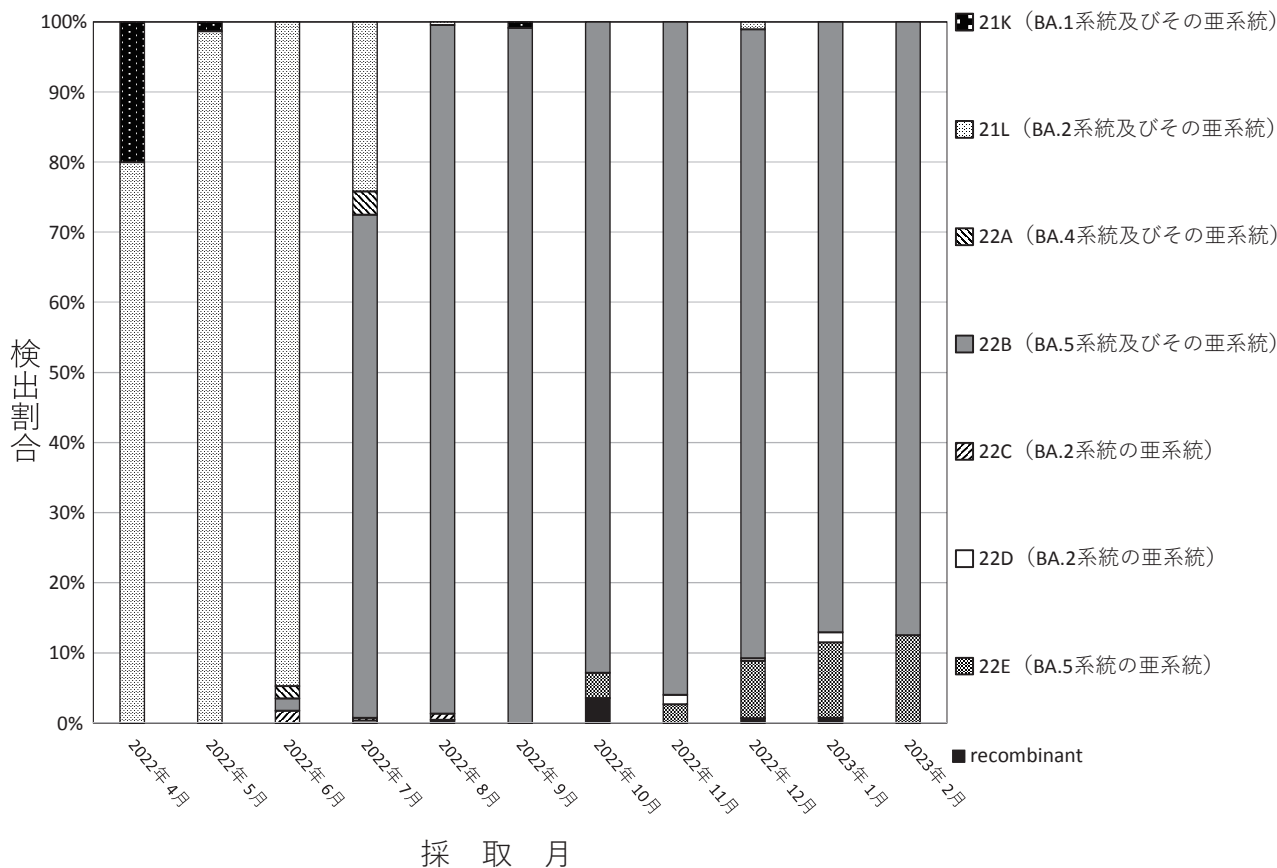


図1 県内におけるClade別の検出割合の推移

表 1. Clade 及び PANGO 系統別の変異株の推移

Clade	亜系統 の由来	PANGO系統	採 取 月												計		
			2022年										2023年				
			4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月				
21K	BA.1	BA.1.1	5													5	23
		BA.1.1.2	14	1					1							16	
		BC.1	1	1												2	
21L	BA.2	BA.2	8	25	5	12										50	353
		BA.2.10	7	12	10	1										30	
		BA.2.10.1	1	1												2	
		BA.2.10.2		2	5	1										8	
		BA.2.18				2										2	
		BA.2.24	25	36	5	8										74	
		BA.2.29	6	14	7	18										45	
		BA.2.3	4	14	4	10	1									33	
		BA.2.3.1	12	22	13	3										50	
		BA.2.3.11		1												1	
		BA.2.3.13	14	20	3	11										48	
		BA.2.3.18	2													2	
		BA.2.5		1												1	
		BA.2.56	1													1	
		BA.2.65		1	1											2	
		BA.2.9			1											1	
		BS.1.1											1			1	
		CM.2											2			2	
22A	BA.4	BA.4.1			1	2									3	10	
		BA.4.6				7									7		
22B	BA.5	BA.5.1				27	13	3		3	4	1			51	1,021	
		BA.5.1.10				1									1		
		BA.5.1.16				3	1	1		2					7		
		BA.5.1.19					1								1		
		BA.5.1.2				1	1								2		
		BA.5.1.22				1		1							2		
		BA.5.1.23				1									1		
		BA.5.1.24				6	1										7
		BA.5.1.27											1	1			2
		BA.5.1.5				1	1				1	9	1				13
		BA.5.2			1	57	74	37	7	23	31	7					237
		BA.5.2.1				39	63	22	3	11	38	17	1				194
		BA.5.2.12				1	2	3			3	1					10
		BA.5.2.19					1										1
		BA.5.2.2										1					1
		BA.5.2.20					2	1									3
		BA.5.2.22				1											1
		BA.5.2.26				4	3				1						8
		BA.5.2.27							1								1
		BA.5.2.3							1				1				2
		BA.5.2.43										5	3				8
		BA.5.2.44										1					1
		BA.5.2.55									3	6	3	1			13
		BA.5.2.6									1	14	13	1			29
		BA.5.5				1											1
		BA.5.6				7											7
		BA.5.6.2					1										1
		BA.5.9								1		1					2
		BE.1				1	1										2
		BE.1.1				7	4	4	1								16
		BE.1.4					1										1
		BE.11					4	1									5
		BE.4					2										2
		BF.1				2	6	1									9
		BF.10					1					1					2
		BF.11										4	1				5
		BF.12				1											1
		BF.13											2				2
		BF.14									1						1
		BF.2											1				1
		BF.21				2	2	1									5
		BF.22				8	3	1									12
		BF.38				2	1					3					6
		BF.38.2					1										1
		BF.4										1					1
		BF.5				22	27	38	13	24	110	39	1				274
		BF.5.4					1				1						2
BF.7										2				2			
BF.7.15									1	14	13	2		30			
BF.7.19.1									2	1				3			
BF.7.4.1									2	8	11			21			
BF.7.6										1				1			
BT.1								1						1			
CK.1.1										1	1			2			
CN.1										3	2			5			
CY.2										1				1			
22C	BA.2	BA.2.12.1			1	1	2							4	4		
22D	BA.2	BA.2.75				1									1	5	
		BA.2.75.2								1					1		
		BL.1.5										1			1		
		BN.1.1										1			1		
		BN.1.3.2											1				1
22E	BA.5	BQ.1								3					3	43	
		BQ.1.1								2	6				8		
		BQ.1.1.3									1				1		
		BQ.1.1.44									2	3	3	1	9		
		BQ.1.1.70										10	1				11
		BQ.1.2											1				1
		BQ.1.3											1	1			2
		ED.1											3	3			6
		EF.1.2											2				2
		22F	XBB	XBB								1					1
XBB.1														1			
recombinant	XAZ						1							1			
		XBF									1	1			2		
計			100	151	57	273	223	117	28	75	293	139	8	1,464			



このうち、第8波の感染拡大の時期とスパイク蛋白質のアミノ酸におけるR346、K444又はN460に変異を有する株の割合が増加した時期は、ほぼ一致していた。R346T変異及びN460K変異を有するXBB系統やK444T変異及びN460K変異を有するBQ.1系統は、中和抗体か

らの逃避能が高いことが実験的に示唆されている<sup>8)</sup>ことや、スパイク蛋白質に対する抗体治療薬への影響が懸念されるアミノ酸置換として、R346、K444、V445、N450などの部位が挙げられている<sup>8)~12)</sup>ことから、県内の第8波においては、R346、K444又はN460のいずれかの箇

表2. BA.5系統及びその亜系統におけるスパイク蛋白質のアミノ酸変異部位別のClade及びPANGO系統の検出数

アミノ酸変異	Clade	PANGO系統	検出数	計	アミノ酸変異	Clade	PANGO系統	検出数	計			
N450D	22B	CN.1	5	6	K444M,N,R,T	22B	BA.5.2	1	24			
		BF.14	1				BA.5.2.55	12				
R346T,S,I	22B	BA.5.1.27	2	99			K444T	22E		BA.5.6	7	43
		BA.5.2.12	1							BA.5.6.2	1	
		BA.5.2.2	1							CK.1.1	2	
		BA.5.2.6	29							CY.2	1	
		BA.5.9	2							BQ.1	3	
		BF.11	5							BQ.1.1	8	
		BF.13	2							BQ.1.1.3	1	
		BF.7	2							BQ.1.1.44	9	
		BF.7.15	30		BQ.1.1.70	11						
		BF.7.19.1	3		BQ.1.2	1						
		BF.7.4.1	21		BQ.1.3	2						
R346T	22E	BF.7.6	1	37	V445A	22B	ED.1	6	1			
		BQ.1.1	8				BF.38.2	1				
		BQ.1.1.3	1				N460K,S	22B		BA.5.2.43	8	11
		BQ.1.1.44	9							BF.5	1	
		BQ.1.1.70	11							CK.1.1	2	
		ED.1	6							N460K	22E	
EF.1.2	2	BQ.1.1	8									
							BQ.1.1.3	1				
							BQ.1.1.44	9				
							BQ.1.1.70	11				
							BQ.1.2	1				
							BQ.1.3	2				
							ED.1	6				
							EF.1.2	2				

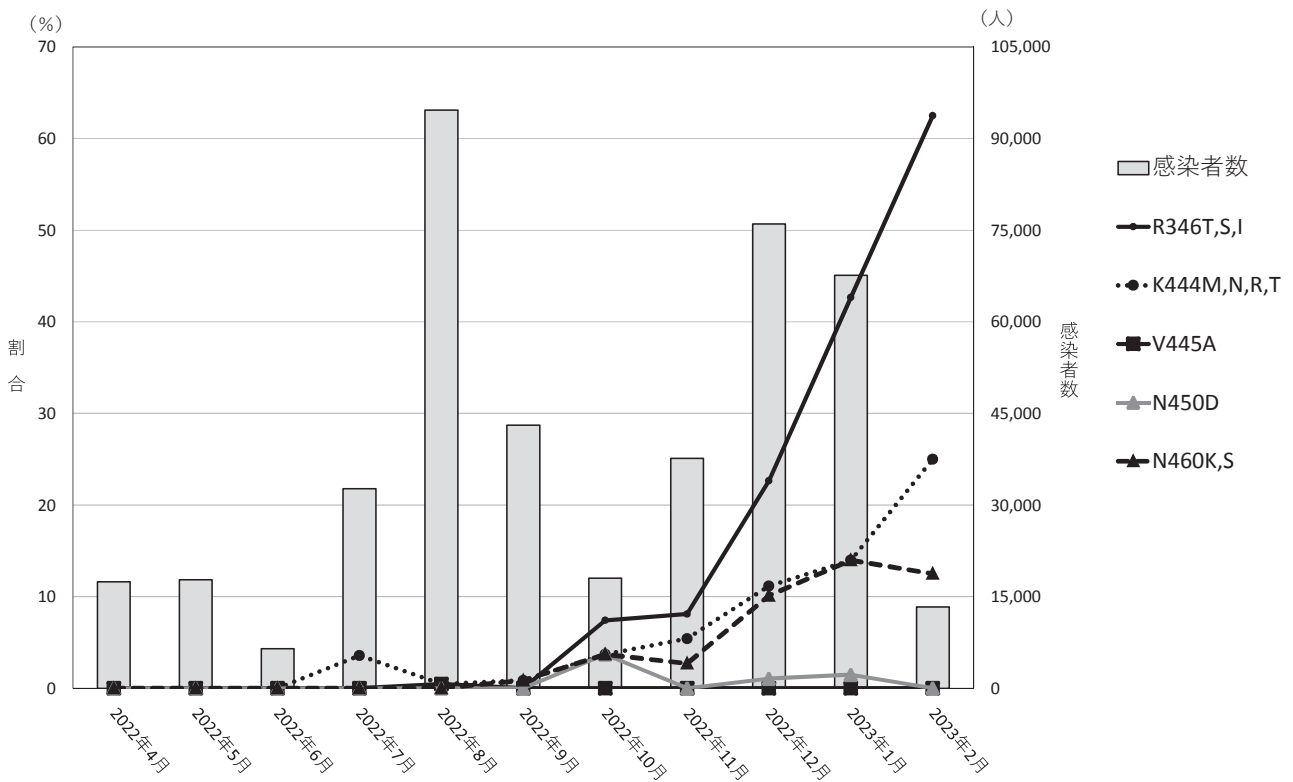


図2 BA.5系統及びその亜系統におけるスパイク蛋白質のアミノ酸部位別の変異の割合と感染者数の推移

所のアミノ酸変異が感染拡大に関与したと推察された。

SARS-CoV-2の全ゲノム解析による調査は、流行変異株のCladeやPANGO系統の把握はもとより、感染拡大への影響が懸念されるスパイク蛋白質におけるアミノ酸に特定の変異を有する株の動向の把握も可能であることから、今後も継続して実施し、県内の感染症対策の一助としたい。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所 感染症疫学センター：新型コロナウイルス感染症2020年5月現在, 病原微生物検出情報, 41, 103-105, 2020
- 2) 岡山県感染症情報センター：岡山県感染症週報2020年第12週（3月16日～3月22日）, <https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/327595.pdf>（2023.5.15アクセス）
- 3) 岡山県感染症情報センター：岡山県感染症週報2023年第9週（2月27日～3月5日）, <https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/341474.pdf>（2023.4.24アクセス）
- 4) 厚生労働省：新型コロナウイルスゲノムサーベイランスによる系統別検出状況（国立感染症研究所）  
[https://www.niid.go.jp/niid/images/cepr/covid-19/20230419\\_genome\\_surveillance.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/cepr/covid-19/20230419_genome_surveillance.pdf)（2023.4.24アクセス）
- 5) 国立感染症研究所：感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の変異株について（第24報）  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/11749-sars-cov-2-24.html>（2023.5.15アクセス）
- 6) 土本祐栄, 岡本尚子, 石井 学, 船橋圭輔, 長尾和彦ら：岡山県におけるSARS-CoV-2の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析調査（2020-2022）岡山県環境保健センター年報, 46, 49-51, 2022
- 7) 岡山県感染症情報センター：岡山県感染症週報2023年第18週（5月1日～5月7日）  
<https://www.pref.okayama.jp/uploaded/attachment/345364.pdf>（2023.5.15アクセス）
- 8) Yunlong Cao, Jing Wang, Fanchong Jian, Tianhe Xiao, Weiliang Song et al. : Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies, *Nature*, 602(7898), 657-663, 2022
- 9) Tyler N. Starr, Allison J. Greaney, Amin Addetia, William W. Hannon, Manish C. Choudhary et al. : Prospective mapping of viral mutations that escape antibodies used to treat COVID-19, *Science*, 371(6531), 850-854, 2021
- 10) Tyler N. Starr, Nadine Czudnochowski, Zhuoming Liu, Fabrizia Zatta, Young-Jun Park et al. : SARS-CoV-2 RBD antibodies that maximize breadth and resistance to escape, *Nature*, 597(7874), 97-102, 2021
- 11) Jinhui Dong, Seth J. Zost, Allison J. Greaney, Tyler N. Starr, Adam S. Dingens et al. : Genetic and structural basis for SARS-CoV-2 variant neutralization by a two-antibody cocktail, *Nat. Microbiol.*, 6(10), 1233-1244, 2021
- 12) 国立感染症研究所：新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対する治療薬の効果に影響を及ぼす可能性があるウイルスゲノム変異によるアミノ酸置換について（第3版）  
[https://www.niid.go.jp/niid/images/cepr/covid-19/20230405\\_SARS-CoV-2\\_mutation\\_3.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/cepr/covid-19/20230405_SARS-CoV-2_mutation_3.pdf)（2023.5.15アクセス）

【調査研究】

遺伝子組換えダイズ混入の判定に係る検査法の導入に関する検討

Investigation on application of a new official analytical method for detecting genetically modified soybean contamination

金子英史, 難波順子, 佐藤 淳, 藤本佳恵, 繁田典子

KANEKO Hidefumi, NAMBA Junko, SATO Atsushi, FUJIMOTO Kae, SHIGETA Noriko

要 旨

遺伝子組換えダイズの検査において、公定法として新設された、ダイズ穀粒の検査法（遺伝子組換え農産物混入の判定に係る検査法）（令和3年9月15日付消食表第389号）（以下「新通知法」という。）を導入するための検討を行った。模擬試料及びダイズ穀粒試料を用い、新通知法に従って定性PCRを行った結果、ダイズ穀粒の検査法（平成27年3月30日付消食表第139号）（以下「従来法」という。）で検出した組換え遺伝子混入率（以下「混入率」という。）0%の試料は「陰性」、0.1%以上の試料は「陽性」という結果であった。他方、混入率0.01%~0.1%の試料は、8件中4件でウェル判定結果がばらつくことによる「PCR用反応液の調製以降を再操作」又は「DNAの抽出精製以降を再操作」（以下「再操作」という。）が必要となった。このことから、新通知法は、混入率0.01%~0.1%の試料で再操作が高頻度で必要となるおそれがあり、従来法と比較すると検査結果の判定に時間を費やすと考えられた。

[キーワード：遺伝子組換え食品, ダイズ, 定性PCR]

[Key words: Genetically modified food, Soybean, Qualitative PCR]

1. はじめに

遺伝子組換え食品の表示は、食品表示法に基づいて実施されており、令和5年4月より、「遺伝子組換えでない」等の表示の基準が、現行の「意図せざる混入を5%以下に抑えている場合」から「遺伝子組換えの混入がないと認められる場合」へと厳格化された（以下「改正食品表示基準」という。）。令和5年4月以前は、ダイズ穀粒の検査法（平成27年3月30日付消食表第139号）（以下「従来法」という。）に従い、定量PCR法で混入率が5%以下であることを確認していたが、令和5年4月以降は「遺伝子組換えの混入がないと認められる場合」を精度良く判定するため、課題である試験室間や検出限界付近のばらつきに対処でき、改正食品表示基準に対応可能である $\Delta\Delta$ Cq法を用いた定性PCR法が導入された。

岡山県では、食の安全・安心事業の一環として、県内で製造されたダイズ加工食品とその原料ダイズを中心に、表示が適正に行われていることを確認する目的で、遺伝子組換え食品の表示が義務化された翌年の平成14年度から検査を行ってきた。今回ダイズ穀粒の検査法（遺伝子組換え農産物混入の判定に係る検査法）（令和3年9月15日付消食表第389号）（以下「新通知法」という。）の導入を目的とした検証を行ったので報告する。

2 実験方法

2.1 試料

試料を表1に示す。

模擬試料は、遺伝子組換え不分別ダイズ(P35S:87.2%)と遺伝子組換え混入率0%のダイズを用いて4検体(P35S混入率:0.12%, 0.06%, 0.012%, 0%)作成した。模擬試料は、当初、粉碎したダイズを重量比で混合調整して作成を試みたが、その方法では求める混入率の試料

表1 試料一覧

	No.	GM混入率(%)		備考
		P35S (RRS+LLS)	RRS2	
模擬試料	1	0.12	0	0.1%以上
	2	0.060	0	0.01% ~ 0.1%(高)
	3	0.012	0	0.01% ~ 0.1%(低)
	4	0	0	0%
ダイズ穀粒試料	5	0.055	0	
	6	0.061	0	
	7	0	0.037	
	8	0	0.070	
	9	0.074	0.56	
	10	0.030	0	
	11	0	0.086	

を作成することが困難であることが判明した（重量比5.0 %，定量検査結果2.7 %）。そこで，粉碎したダイズのDNA抽出液を重量比で混合調整する方法で試みたところ，良好な結果が得られた（重量比0.1 %，定量検査結果0.12 %）ので，本法に従い調整した。

また，ダイズ穀粒試料は，令和3年度に検査したダイズ穀粒試料の7検体（混入率0 %～0.56 %）を用いた。

## 2.2 試薬等

QIAGEN製：DNeasy Plant Mini Kit，RNaseA（100 mg/mL），AP1緩衝液，P3緩衝液，AW1緩衝液，AW2緩衝液

滅菌水（超純水を滅菌）

ニッポンジーン製：ダイズ内在性DNA Le1 オリゴヌクレオチドセット

組換えDNA P35S オリゴヌクレオチドセット

GMダイズ(RR2)系統別DNA RR2 オリゴヌクレオチドセット

GMダイズ混入判定用プラスミドセット

## 2.3 装置

分光光度計：Thermo Fisher Scientific製 NanoDrop One

リアルタイムPCR：Roche Diagnostics製 LightCycler 96

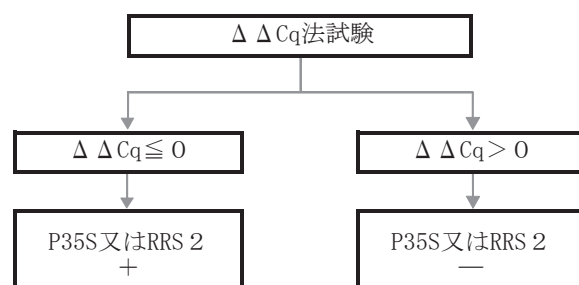
## 2.4 測定

シリカゲル膜タイプキット法（QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit）で抽出精製したDNA試料原液を希釈調製し，新通知法に従い実施した。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 新通知法

新通知法で採用されている $\Delta\Delta Cq$ 法は，調べたい遺伝子の量をコントロール遺伝子の量で補正し，サンプルごとに比較することで相対的に判定する方法である。具体的には，標的遺伝子（P35S又はRRS2）の $Cq$ 値から内在性コントロール（Le1）の $Cq$ 値を引いたものを $\Delta Cq$ 値とし，更に，各サンプルの $\Delta Cq$ 値から基準となるサンプルの $\Delta Cq$ 値を引いたものを $\Delta\Delta Cq$ 値とする。従って， $\Delta\Delta Cq$ 値が0以下の場合には基準となるサンプルより増幅が早いので「ポジティブ（+）」， $\Delta\Delta Cq$ 値が0より大きい場合は，増幅が遅いので「ネガティブ



$$\Delta Cq = Cq(\text{P35S又はRRS2}) - Cq(\text{Le1})$$

$$\Delta\Delta Cq = \Delta Cq(\text{DNA試料液}) - \Delta Cq(\text{標準プラスミドDNA溶液})$$

DNA試料液の $Cq$ 値は1ウェルごとの値、  
標準プラスミドDNA溶液の $Cq$ 値は2ウェルの平均値を用いる

図1 リアルタイムPCR試験結果の各ウェルの判定スキーム（ダイズ）

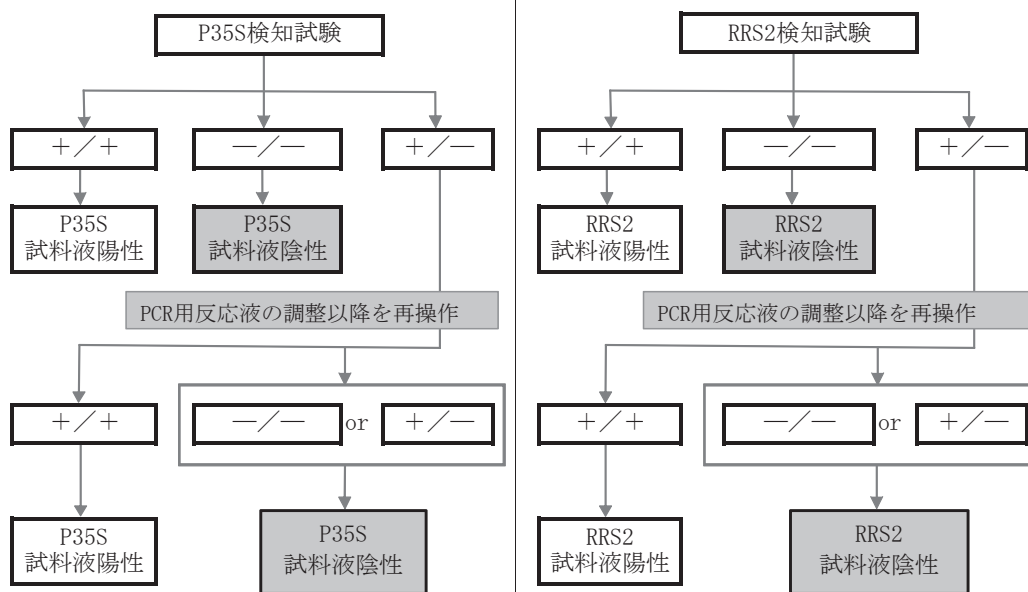


図2 リアルタイムPCR試験結果の各試料液の判定スキーム（ダイズ）

(-)」と判定することができる。詳細な判定は、新通知法に示された判定図（以下「判定図」という。）に基づき行う。判定図を図1、図2、図3-1及び図3-2に示す。

### 3.2 模擬試料による検証

今回検証に当たり、模擬試料を作成したが、既報告をもとに特に判定に疑義の生じる可能性のあるP35Sの混入率が0.12% (0.1%以上)、0.06% (0.01%~0.1% (高))、0.012% (0.01%~0.1% (低))、0%の4検体を作成した。すなわち、改正食品表示基準に対応した遺伝子組換えダイズ混入の判定に係る定性PCR検査法の開発<sup>1)</sup>で行われた試験室間共同試験において示された結果（以下「試験室間共同試験結果」という。）では、混入率0.5%、0.2

%及び0.1%が「陽性」、0.01%及び0%が「陰性」であり、高い信頼性をもって陽性と判定される最低濃度は0.1%であった。また、細川らの報告<sup>2)</sup>では、P35Sの混入率が0.05%以下は全て「陰性」、0.06%~0.16%は「陽性」、「陰性」又は「PCR用反応液の調製以降を再操作」（以下「PCR再操作」という。）と判定にばらつきが認められ、0.19%以上は全て「陽性」となった。一方、RRS2の混入率が0%は「陰性」、0.05%~0.08%は判定にばらつきが認められ、0.09%以上は全て「陽性」であった。これらの報告から、新通知法導入にあたり、混入率0.01%~0.1%は「陽性」又は「陰性」と判定がばらつくことが予想されたことによる。

パターン	2併行抽出リアルタイムPCR判定結果の組み合わせ				検知結果
	P35S		RRS2		
	試料液1	試料液2	試料液1	試料液2	
①	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	検体陽性
	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	
	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	
	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	
	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	
	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	
②	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	検体陰性
③	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	DNAの抽出精製以降を再操作(※)
	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	
	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	

※試料液1及び2共に試料液陰性の検知試験については、DNAの抽出精製以降の再操作は不要とする。

図3-1 2併行抽出試験結果の判定スキーム（ダイズ）

パターン	2併行抽出リアルタイムPCR判定結果の組み合わせ				検知結果
	P35S		RRS2		
	試料液1	試料液2	試料液1	試料液2	
①	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	検体陽性
	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	
	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	
	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	
	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陽性	
	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	
②	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	検体陰性
③	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	検体陰性
	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陽性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陽性	
	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	試料液陰性	
	試料液陰性	試料液陰性	試料液陰性	試料液陽性	

図3-2 2併行抽出試験結果の判定スキーム（DNA再抽出時）（ダイズ）

表2 模擬試料の定性PCRの結果

検体	標準試料液		Le1 検知試験 Cq	P35S (RRS+LLS) 検知試験						RRS2 検知試験						総合判定
	ΔCq (P35S)	ΔCq (RRS2)		P35S 混入率 (%)	Cq	ΔCq	ΔΔCq	ウェル 判定	試料液 判定	RRS2 混入率 (%)	Cq	ΔCq	ΔΔCq	ウェル 判定	試料液 判定	
1	10.8	11.3	0.12	25.3	34.4	9.10	-1.70	+	陽性	0	-	-	-	-	陰性	陽性
				25.3	34.4	9.10	-1.70	+	陽性		-	-	-	-	陰性	
				25.3	35.1	9.80	-1.00	+	陽性		-	-	-	-	陰性	
				25.3	34.3	9.00	-1.80	+	陽性		-	-	-	-	陰性	
2	10.8	11.3	0.06	25.3	35.4	10.1	-0.70	+	陽性	0	-	-	-	-	陰性	陽性
				25.3	35.6	10.3	-0.50	+	陽性		-	-	-	-	陰性	
				25.3	35.1	9.80	-1.00	+	陽性		-	-	-	-	陰性	
				25.3	35.3	10.0	-0.80	+	陽性		-	-	-	-	陰性	
3	10.8	11.3	0.012	25.3	37.9	12.6	1.80	-	陰性	0	-	-	-	-	陰性	陰性
				25.3	36.4	11.1	0.30	-	陰性		-	-	-	-	陰性	
				25.2	36.9	11.7	0.90	-	陰性		-	-	-	-	陰性	
				25.3	38.1	12.8	2.00	-	陰性		-	-	-	-	陰性	
4	10.8	11.3	0	25.3	0			-	陰性	0	-	-	-	-	陰性	陰性
				25.3	0			-	陰性		-	-	-	-	陰性	
				25.8	0			-	陰性		-	-	-	-	陰性	
				25.8	0			-	陰性		-	-	-	-	陰性	



模擬試料の定性PCRを行った結果を表2に示す。今回の検証において、混入率0.01%～0.1%において、明確に「陽性」又は「陰性」と判定され、報告されたばらつきは確認されなかった。

### 3.3 ダイズ穀粒試料による検証

ダイズ穀粒試料の定性PCR結果を表3に示す。P35Sの混入率0%で「陰性」、0.030%及び0.055%で「PCR再操作」、0.061%及び0.074%で「陽性」であった。また、RRS2の混入率0%で「陰性」、0.037%及び0.070%で「PCR再操作」、0.086%及び0.56%で「陽性」であった。総合判定は、混入率が0.1%を超えていた1検体は「陽性」となり、0.1%未満の場合では、6検体中、2件は「陽性」、4件はウェル判定が「+」と「-」となり判定図により「PCR再操作」となった。

次に、この「PCR再操作」となった4件について、再度、定性PCRを行った結果を表4に示す。4件全てで総合判定が「DNAの抽出精製以降を再操作」（以下「DNA抽出再操作」という。）となった。今回、DNA抽出再操作以降の検証はできていないが、「DNA抽出再操作」となった検体の最終判定は、DNA抽出再操作以降の結果を、図3-2に基づき判定することとなる。

なお、1回目の定性PCR検査で「陽性」又は「陰性」と判定された試料を確認したところ、1回目と同じ判定結果が得られ、再現性が確認できた。

測定機種が異なるので一概には判断できないが、細川らの報告<sup>2)</sup>と同等程度の結果であった。

今回、ダイズ穀粒試料と模擬試料の結果で、ばらつきに違いが生じた理由として、今回検証したデータ数が少ないので断定はできないが、組換え遺伝子混入率が高い検体ほど、ばらつきが低くなる傾向が見受けられた。模擬試料は、組換え遺伝子混入率が高い検体を用いて調整したため、ばらつきを生じる反応が抑えられたのではないかと考えられた。

## 4 まとめ

岡山県で令和2年度から令和4年度に従来法で検査したダイズ穀粒は、53検体であり、これらを混入率別(0%、0.01%～0.1%、0.1%)に分類した結果を表5に示す。混入率0.01%～0.1%の試料は15件で新通知法の導入時に判定が困難と思われる検体が3割を占めた。これらの試料は「PCR再操作」、「DNA抽出再操作」となる可能性が高いため、新通知法の導入時には、従来法よりも検査結果の判定に時間を費やすと考えられた。

表3 ダイズ穀粒試料の定性PCRの結果

検体	P35S (RRS+LLS) 検知試験			RRS2検知試験			総合判定
	P35S混入率(%)	ウェル判定	試料液判定	RRS2混入率(%)	ウェル判定	試料液判定	
5	0.055	+	陽性	0	-	陰性	総合判定の前にPCR再操作
		+	PCR再操作		-	陰性	
		+	PCR再操作		-	陰性	
		-	PCR再操作		-	陰性	
6	0.061	+	陽性	0	-	陰性	陽性
		+	陽性		-	陰性	
		+	陽性		-	陰性	
		+	陽性		-	陰性	
7	0	-	陰性	0.037	+	陽性	総合判定の前にPCR再操作
		-	陰性		+	PCR再操作	
		-	陰性		+	PCR再操作	
		-	陰性		-	PCR再操作	
8	0	-	陰性	0.070	+	PCR再操作	総合判定の前にPCR再操作
		-	陰性		-	PCR再操作	
		-	陰性		+	陽性	
		-	陰性		+	陽性	
9	0.074	+	陽性	0.56	+	陽性	陽性
		+	陽性		+	陽性	
		+	陽性		+	陽性	
		+	陽性		+	陽性	
10	0.030	-	陰性	0	-	陰性	総合判定の前にPCR再操作
		-	陰性		-	陰性	
		+	PCR再操作		-	陰性	
		-	PCR再操作		-	陰性	
11	0	-	陰性	0.086	+	陽性	陽性
		-	陰性		+	陽性	
		-	陰性		+	陽性	
		-	陰性		+	陽性	

PCR再操作となった場合

表4 PCR再操作のダイズ穀粒試料の定性PCRの結果

検体	P35S (RRS+LLS) 検知試験			RRS2検知試験			総合判定
	P35S混入率(%)	ウェル判定	試料液判定	RRS2混入率(%)	ウェル判定	試料液判定	
5	0.055	-	陽性*	0	-	陰性*	DNA抽出再操作
		-	陰性*		-	陰性*	
		+	陰性*		-	陰性*	
7	0	-	陰性*	0.037	-	陽性*	DNA抽出再操作
		-	陰性*		-	陰性	
		-	陰性*		-	陰性	
8	0	-	陰性*	0.070	+	陰性	DNA抽出再操作
		-	陰性*		-	陽性*	
		-	陰性*		-	陽性*	
10	0.030	-	陰性*	0	-	陰性*	DNA抽出再操作
		+	陽性		-	陰性*	
		+	陽性		-	陰性*	

※1回目でPCR再操作にならなかった試料液の結果

DNA抽出再操作となった場合

表5 ダイズ穀粒の混入率別の検体数(令和2年度～令和4年度)

年度	混入率			計
	0%	0.01%～0.1%	0.1%以上	
R2	17	3	1	21
R3	11	6	1	18
R4	7	6	1	14
計	35	15	3	53



## 文 献

- 1) 高畠令玉奈, 江木智宏, 曾我慶介, 峰岸恭孝, 成島純平, 吉場聡子, 柴田識人, 中村公亮, 近藤一成, 岸根雅宏, 真野潤一, 橘田和美: 改正食品表示基準に対応した遺伝子組換えダイズ混入の判定に係る定性PCR検査法の開発, 第117回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集, 33, 2021
- 2) 細川葵, 菅野陽平: 新規遺伝子組換え大豆検査の導入に関する検討, 第59回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 94-95, 2022
- 3) 内閣府: 第65回食品表示部会 議事録, 29-41  
[https://www.cao.go.jp/consumer/history/07/kabusoshiki/syokuhinhyouji/doc/211223\\_gijiroku2.pdf](https://www.cao.go.jp/consumer/history/07/kabusoshiki/syokuhinhyouji/doc/211223_gijiroku2.pdf) (2023.12.6アクセス)



【調査研究】

# LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中のテトラサイクリン系抗生物質に関する一斉分析法の検討

Study on a Method for Simultaneous Determination of Tetracycline Antibiotics in Cattle Muscle by LC-MS/MS

難波順子, 藤本佳恵, 金子英史, 佐藤 淳, 浦山豊弘\*, 繁田典子

\*岡山県美作県民局

NAMBA Junko, FUJIMOTO Kae, KANEKO Hidefumi, SATO Atsushi, URAYAMA Toyohiro\*, SHIGETA Noriko

## 要 旨

テトラサイクリン系抗生物質の迅速かつ高感度な分析方法の確立を目的として、7種類のテトラサイクリン系抗生物質（テトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン、デメクロサイクリン、ミノサイクリン及びチゲサイクリン）について、牛の筋肉を試料として一斉分析法の検討を行った。牛の筋肉試料を用い、10 mmol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム含有0.1 mol/Lトリス塩酸緩衝液で抽出し、固相カラム（HLB1g）を用いて精製した後、メタノール/ヘキサン分配を行い、マトリックス混合標準液を用いてLC-MS/MSで定量する分析法を構築した。妥当性評価を行ったところ、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン及びデメクロサイクリンが目標値を満たした。クロルテトラサイクリンは、精度は目標値を満たさなかったが、真度が目標値を満たしていたため、確認試験として活用できると考えられた。ミノサイクリン及びチゲサイクリンは、マトリックスの影響が大きく、マトリックス混合標準液の定量限界が高いため妥当性を評価できなかった。

[キーワード：テトラサイクリン系抗生物質、牛の筋肉、一斉分析法、液体クロマトグラフトンデム質量分析計]

[Key words : Tetracycline antibiotics, Cattle muscle, Simultaneous determination, LC-MS/MS]

## 1 はじめに

テトラサイクリン系抗生物質は、骨格として炭素の6員環が4つつながった構造を有し、抗菌スペクトルはきわめて広く、グラム陽性菌、グラム陰性菌、スピロヘータ、リケッチア、クラミジア及びマイコプラズマに有効であり<sup>1), 2)</sup>、動物用医薬品中で原末換算量が最も多い抗生物質である<sup>3)</sup>。人に対する医療における外用剤、経口剤及び注射剤はもとより、動物用医薬品や飼料添加物としても汎用されているが、一方で食品衛生の観点では、畜水産食品への残留が懸念されている。

テトラサイクリン系抗生物質の検査は、「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」（平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知）により「オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン試験法」及び「ドキシサイクリン試験法」が示されている。しかし、4物質を同時に検査できないため、地方衛生研究所等において、高感度かつ迅速に分析できるLC-MS/MSを用いた一斉分析法の

開発が進められている<sup>4), 5)</sup>。なお、食品に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品の分析に当たっては、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」（平成19年11月15日付け食安発第1115001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知。以下「ガイドライン」という。）により、分析機関ごとに妥当性評価を実施して目標値を満たすことが必要とされている。

本県では平成30年度まで、テトラサイクリン系抗生物質についての理化学的検査法を確立していなかったため、微生物学的検査法のみを実施していた。そこで、令和元年度からLC-MS/MSを用いた系統別一斉分析法の検討を開始し、これまでにはちみつを分析対象とした妥当性評価を実施し、理化学的検査の体制構築に努めてきた<sup>6), 7)</sup>。今回、新たに牛の筋肉を対象とした分析法を構築し、妥当性評価を実施したので報告する。

## 2 方法

### 2.1 試料

ガイドラインにより代表的な畜水産物とされている牛

の筋肉を試料とした。

## 2.2 標準品, 固相カラム及び試薬

標準品：テトラサイクリン, クロルテトラサイクリン, ドキシサイクリン, デメクロサイクリン, ミノサイクリン及びチゲサイクリン：富士フィルム和光純薬製

オキシテトラサイクリン：関東化学製

標準原液：各標準品10.0 mgを精秤後, メタノールに溶解し, 10.0 mLに定容して標準原液 (1000 µg/mL) を調製した。(溶解しにくい物質は少量のギ酸を添加してメタノールに溶解させた)

混合標準原液：各標準原液 (1000 µg/mL) を各1 mLずつ分取して混合し, メタノールで10 mLに定容して100 µg/mLの混合標準原液を調製した。

混合標準溶液：混合標準原液を順次, 水で希釈して調製した。(0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 µg/mL)

マトリックス添加混合標準溶液：牛の筋肉試料 (以下「ブランク試料」という。) を用いて作成した測定溶液に混合標準原液を添加し, 調製した。(0.002, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2 µg/mL)

固相カラム：Waters製Oasis HLB 20 cc, 1 g (以下「HLB1g」という。)

Waters製Oasis HLB Plus 225 mg (以下「HLB Plus225mg」という。)

Waters製Oasis HLB 60 mg (以下「HLB60mg」という。)

Waters製Oasis PRiME 200 mg (以下「PRiME200mg」という。)

Waters製Oasis PRiME 500 mg (以下「PRiME500mg」という。)

メンブレンフィルター：Millipore製Millex-LCR 0.45 µm

その他の試薬：残留農薬試験用, LC/MS用及び特級試薬を用いた。

## 2.3 LC-MS/MS装置及び測定条件

カラム：Waters製Atlantis T3 2.1 mm×150 mm, 3 µm  
その他の条件等：既報<sup>7)</sup>のとおり。

## 2.4 測定溶液調製方法

既報<sup>8)</sup>の分析フローを参考にした。牛の筋肉試料2 gを50 mLポリプロピレン製 (以下「PP製」という。) 遠沈管に量り取り, 10 mmol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (以下「Na<sub>2</sub>EDTA」という。) 含有0.1 mol/Lトリス塩酸緩衝液15 mLを加えてホモジナイズした後, 10分間振とうし, 6900×gで20分間, 室温で遠心分離した。上層を50 mL PP製遠沈管に分取し, 沈殿を10 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA含有0.1 mol/Lトリス塩酸緩衝

液5 mLで再抽出し, 遠心分離後, 上層を最初の上層と合わせ再度遠心分離後上層を分取し20 mLに定容した。

HLB1gカラムをメタノール10 mL, 水10 mL, 10 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA含有0.1 mol/Lトリス塩酸緩衝液10 mLで順番にコンディショニングした。そこに定容した上層10 mLを負荷し, 水10 mLで洗浄し, 遠心脱水後, メタノール10 mLで溶出させた。溶出液を50 mL分液ロートに移し, メタノール飽和ヘキサン10 mLを加えて振とうし, メタノール層を分取した。メタノール層に窒素ガスを吹き付けてほぼ乾固するまで濃縮し, 濃縮液を水で1 mLに定容後, 0.45 µmメンブレンフィルターでろ過したものをLC-MS/MS測定溶液とした。

## 2.5 定量及びマトリックスの効果の評価方法

LC-MS/MS測定で得られたマトリックス添加混合標準溶液及び測定溶液のピーク面積から絶対検量線法により測定溶液中の濃度を求め, 試料中の含量を算出した。

マトリックス効果は次式により算出したピーク面積比を指標として評価した。

$$\text{ピーク面積比} = a \div b \times 100(\%)$$

a：マトリックス添加混合標準溶液のピーク面積

b：混合標準溶液のピーク面積

## 2.6 精製法の検討方法

固相カラムの検討を以下の方法により実施した。5種類の固相カラムを各々メタノール10 mL, 水10 mL, 10 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA含有0.1 mol/Lトリス塩酸緩衝液10 mLで順番にコンディショニングした。10 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA含有0.1 mol/Lトリス塩酸緩衝液10 mLに各物質が0.1 µgになるように添加後, 固相カラムに負荷し, 水10 mLで洗浄し, 遠心脱水後, メタノール又はアセトニトリル5 mLずつ2回に分けて (合計10 mL) 溶出させた。溶出液5 mLをほぼ乾固するまで濃縮し, 濃縮液を水で1 mLに定容して測定溶液とした。

ヘキサン分配の検討を以下の方法により実施した。ガラス製分液ロート又はPP製分液ロートにメタノール10 mL若しくは5%含水メタノール10 mL及びメタノール飽和ヘキサン10 mL又はアセトニトリル10 mL若しくは5%含水アセトニトリル10 mL及びアセトニトリル飽和ヘキサン10 mLを加え, 各物質が0.1 µgとなるように添加後, 振とうし, 下層を分取した。これをほぼ乾固するまで濃縮し, 濃縮液を水で1 mLに定容して測定溶液とした。

## 2.7 妥当性評価の方法

ガイドラインに示された, 分析者1名が2併行5日間実施する枝分かれ実験計画に基づき, ブランク試料に添加濃度0.1 µg/g及び0.01 µg/gの2濃度で添加して添加

回収試験を実施し、選択性、真度及び精度を評価した。

### 3 結果及び考察

#### 3.1 LC-MS/MS測定条件

既報<sup>8)</sup>ではテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン及びデメクロサイクリンは定量限界が高いため検討対象物質から除外していることから、LC-MS/MS測定条件の再検討を行った。MS条件は既報<sup>7)</sup>を参考にし、LCカラムの検討を行った。既報<sup>8)</sup>で使用したXTerra MS C18と上田らの報告<sup>5)</sup>を参考にAtlantis T3を用い、移動相をA:0.1%ギ酸水溶液、B:アセトニトリルとしてピーク面積及びピーク高を比較した結果を表1に示す。XTerra MS C18を用いた場合の値を100%とした場合、ミノサイクリンがピーク面積比は93%とほぼ同等であったが、それ以外の物質ではAtlantis T3を用いた方がピーク面積及び高さが大きくなっており、ミノサイクリンも含めて顕著なピーク形状の改善が見られたことから、AtlantisT3を採用した。

表1 LCカラムの比較

抗生物質名	Atlantis T3/X Terra MS C18 ピーク比(%)	
	面積	高さ
テトラサイクリン	145	216
クロルテトラサイクリン	130	250
オキシテトラサイクリン	115	265
ドキシサイクリン	104	173
デメクロサイクリン	155	305
ミノサイクリン	93	145
チゲサイクリン	296	330

表2 測定溶液の組成によるピーク面積の比較

抗生物質名	H <sub>2</sub> O	MeOH系			AcN系		
		H <sub>2</sub> O:MeOH (9:1)	H <sub>2</sub> O:MeOH (5:5)	MeOH	H <sub>2</sub> O:AcN (9:1)	H <sub>2</sub> O:AcN (5:5)	AcN
テトラサイクリン	100	88	102	91	101	94	91 *
クロルテトラサイクリン	100	93	99	93	99	94	97
オキシテトラサイクリン	100	90	99	88	101	98	91 *
ドキシサイクリン	100	95	103	91	98	94	99
デメクロサイクリン	100	91	98	89	96	97	96 *
ミノサイクリン	100	91	98	90	94	93	43 *
チゲサイクリン	100	90	103	36 *	97	24 *	12 *

\* ピーク形状が悪化

#### 3.2 測定溶液中の含水率の検討

測定溶液中のメタノール又はアセトニトリルと水の組成比によって、ピーク形状及びピーク面積に変化が見られる物質があるため、測定溶液の組成比によるピーク形状の変化を検討した。測定溶液が水の場合のピーク面積を100%としたピーク面積比(%)を表2に示す。クロルテトラサイクリン及びドキシサイクリンは測定溶液の種類によってピーク形状及びピーク面積に大きな相違はなかった。一方、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン及びデメクロサイクリンはアセトニトリルではピーク面積に大きな相違はないが、ピークが2本に分かれる等ピーク形状が悪化した。ミノサイクリンはアセトニトリルの場合、チゲサイクリンはメタノール、アセトニトリルと水の混液(5:5)及びアセトニトリルの場合にピークが2本に分かれる等ピーク形状が悪化し、ピーク面積が大きく減少した。水～メタノールと水の混液(5:5)までは対象7物質全てでピーク形状及び面積比(%)に影響は認められなかったことから、測定溶液は水で定容した。

#### 3.3 検量線

試料中のマトリックスによる目的成分のイオン化への影響を補正するためにマトリックス添加混合標準液を検討した。混合標準溶液とマトリックス添加混合標準液の検量線最低濃度(S/N比が10以上)を表3に示す。ミノサイクリンとチゲサイクリン以外の5物質の検量線最低濃度は、混合標準溶液では0.002 µg/mL、マトリックス添加混合標準液では0.005 µg/mLであった。ミノサイクリン及びチゲサイクリンの検量線最低濃度は、溶媒混合標準溶液ではそれぞれ0.002 µg/mL及び0.01 µg/mL、マトリックス添加混合標準液ではそれぞれ0.01 µg/mL及び0.2 µg/mLであった。また、ミノサイクリンとチゲサイクリン以外の5物質の検量線をマトリックス添加混合標準液0.005 µg/mL～0.2 µg/mLの5点で作成したと



ころ、全ての物質で決定係数 ( $r^2$ ) が0.99以上の直線性が認められた。ミノサイクリンの検量線はマトリックス添加混合標準液0.01  $\mu\text{g/mL}$ ~0.2  $\mu\text{g/mL}$ の4点で作成したところ、決定係数 ( $r^2$ ) が0.99以上の直線性が認められなかった。よって、ミノサイクリンとチゲサイクリンは妥当性評価を実施せず、マトリックス効果及び精製法の検討のみ行った。

表3 検量線最低濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )

抗生物質名	混合標準溶液	マトリックス添加混合標準溶液
テトラサイクリン	0.002	0.005
クロルテトラサイクリン	0.002	0.005
オキシテトラサイクリン	0.002	0.005
ドキシサイクリン	0.002	0.005
デメクロサイクリン	0.002	0.005
ミノサイクリン	0.002	0.01
チゲサイクリン	0.01	0.2

### 3.4 マトリックス効果の検討

チゲサイクリンの検量線最低濃度は、混合標準溶液では0.01  $\mu\text{g/mL}$ であったが、マトリックス添加混合標準液では0.2  $\mu\text{g/mL}$ と20倍高い値になった。これはチゲサイクリンがマトリックスの影響を著しく受けることが原因と推測された。そこで、測定溶液中の水に対するマトリックスの割合(%)を0, 25, 50, 75, 100%と変化させ、ピーク面積比によるマトリックス効果の検討を行った結果を図1に示す。マトリックスの割合が25%では、対象7物質全てでピーク面積比が混合標準溶液比で85%~110%程度であり、顕著なマトリックス効果は見られなかった。一方マトリックスの割合が100%では、ミノサイクリン及びチゲサイクリン以外の5物質はピーク面積比が61%~82%であったが、ミノサイクリン及びチゲサイクリンはそれぞれ28%及び3%となり、この2物質は、マトリックスの影響を顕著に受けることが確認できた。なお、今回は定量限界等を考慮して、マトリックスの割合を25%とした検討は行わなかったが、今後、機器の更新等により、定量限界をより低く設定できる場合は、改めて検討を行いたい。

### 3.5 精製法の検討

牛の筋肉は、タンパク質や脂質などのマトリックスを多く含むため、既報<sup>8)</sup>では固相カラム及びアセトニトリル/ヘキサン分配で精製している。そこで、今回も固相カラム及びヘキサン分配による精製法の検討を行った。

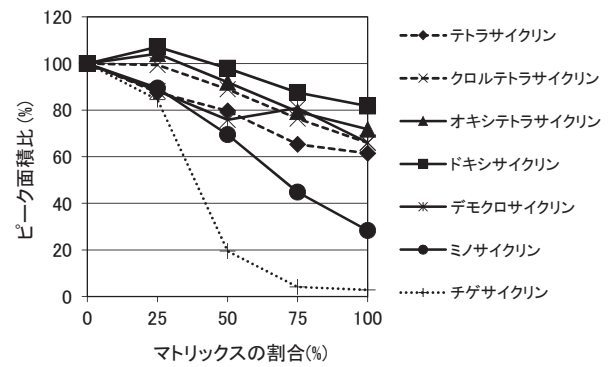


図1 マトリックス効果

#### 3.5.1 固相カラム及び溶出液の検討

固相カラムの種類及び溶出液の検討を行った結果を表4に示す。対象7物質全てが70%以上溶出したのは、固相カラムはHLB1g, PRiME200mg又はPRiME500mgを用い、メタノール5 mLずつ2回(合計10 mL)で溶出した場合であった。

#### 3.5.2 ヘキサン分配の検討

メタノール又は5%含水メタノール/ヘキサン分配及びアセトニトリル又は5%含水アセトニトリル/ヘキサン分配の検討を行った結果を表5に示す。ガラス製分液ロートを用いた場合は、対象7物質全てで低い回収率であり、ガラス表面で吸着又は分解が生じている可能性が推測された。一方PP製分液ロートを用いた場合は、回収率70%以上であったのは、5%含水アセトニトリルを用いた場合は全7物質、アセトニトリルを用いた場合はチゲサイクリン以外の6物質、メタノールを用いた場合はミノサイクリン及びチゲサイクリン以外の5物質、5%含水メタノールを用いた場合はテトラサイクリン及びオキシテトラサイクリンのみであった。ミノサイクリン及びチゲサイクリンは妥当性評価を行わないこと及び固相カラムの溶出液をメタノールとしたことを考慮して、メタノール/ヘキサン分配を採用した。また、この結果から、使用する器具はPP製を用いることとした。

#### 3.5.3 精製法の決定

牛の筋肉の抽出液を、3.5.1で検討した固相カラム(HLB1g, PRiME200mg又はPRiME500mg)に負荷し、メタノール10 mLで溶出した後、メタノール/ヘキサン分配で精製を行ったところ、固相カラムにPRiME200mg及びPRiME500mgを用いた場合は、LC-MS/MS測定溶液が着色しているなど、精製不足が懸念されたため、妥当性評価にはHLB1gを用いることとした。

### 3.6 妥当性評価結果

#### 3.6.1 選択性



ブランク試料として使用する牛の筋肉を2.4に従って前処理した後、LC-MS/MSで測定し、定量を妨害するピークの有無を確認したところ、全ての物質のクロマトグラムにおいて、ガイドラインに示された選択性の目標

値（ピークの面積が基準値のピーク面積の1/10又は定量限界のピーク面積の1/3未満）を超える妨害成分は認められなかった。

### 3.6.2 真度及び精度

表4 固相カラムからの溶出率 (%)

固相カラム	HLB1g						HLB60mg					
	メタノール			アセトニトリル			メタノール			アセトニトリル		
溶出溶媒			合計			合計			合計			合計
液量 (mL)	0-5	5-10		0-5	5-10		0-5	5-10		0-5	5-10	
テトラサイクリン	103	0	103	85	0	85	82	0	82	95	0	95
クロルテトラサイクリン	71	0	71	47	0	47	56	0	56	57	0	57
オキシテトラサイクリン	100	0	100	87	0	87	87	0	87	90	0	90
ドキシサイクリン	99	2	101	76	0	76	60	0	60	79	0	79
デメクロサイクリン	99	0	101	82	0	82	84	0	84	88	0	88
ミノサイクリン	75	10	85	78	4	83	47	0	47	70	0	70
チゲサイクリン	97	7	104	75	3	77	28	0	28	40	0	40

固相カラム	PRiME200mg						PRiME500mg					
	メタノール			アセトニトリル			メタノール			アセトニトリル		
溶出溶媒			合計			合計			合計			合計
液量 (mL)	0-5	5-10		0-5	5-10		0-5	5-10		0-5	5-10	
テトラサイクリン	104	0	104	101	0	101	94	0	94	103	0	103
クロルテトラサイクリン	94	0	94	64	0	64	95	0	95	55	0	55
オキシテトラサイクリン	106	0	106	105	0	105	107	0	107	99	0	99
ドキシサイクリン	111	0	111	103	0	103	99	0	99	110	3	113
デメクロサイクリン	105	0	105	99	0	99	108	0	108	100	0	100
ミノサイクリン	93	0	93	99	0	99	89	0	89	92	3	95
チゲサイクリン	93	0	93	37	11	48	104	0	104	1	20	21

固相カラム	HLB Plus225mg					
	メタノール			アセトニトリル		
溶出溶媒			合計			合計
液量 (mL)	0-5	5-10		0-5	5-10	
テトラサイクリン	91	0	91	78	0	78
クロルテトラサイクリン	35	0	35	17	0	17
オキシテトラサイクリン	91	0	91	87	0	87
ドキシサイクリン	93	0	93	90	0	90
デメクロサイクリン	78	0	78	64	0	64
ミノサイクリン	81	0	81	59	0	59
チゲサイクリン	64	0	64	45	0	45

70%以上

表5 ヘキサン分配の回収率 (%)

分液ロート	ガラス製分液ロート				PP製分液ロート			
	メタノール	5%含水メタノール	アセトニトリル	5%含水アセトニトリル	メタノール	5%含水メタノール	アセトニトリル	5%含水アセトニトリル
テトラサイクリン	48	59	31	37	72	76	101	101
クロルテトラサイクリン	42	56	22	27	72	67	94	91
オキシテトラサイクリン	52	65	42	41	70	76	98	99
ドキシサイクリン	43	49	28	30	71	60	96	91
デメクロサイクリン	38	52	18	20	77	67	93	89
ミノサイクリン	7	5	11	13	50	38	83	82
チゲサイクリン	0	0	0	0	31	20	53	70

70%以上

添加回収試験における真度及び精度の結果を表6に示す。テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン及びデメクロサイクリンの4物質は感度、真度、併行精度及び室内精度の目標値を満たした。しかし、クロルテトラサイクリンは回収率の日間変動が大きく、室内精度が27 %と目標値を超過した。その理由として、抽出溶媒及びHLB固相カラムへの負荷液のpHがクロルテトラサイクリンの回収率に影響する<sup>4), 5)</sup>ことから、クロルテトラサイクリンが目標値を達成するには、固相カラム条件等の更なる検討が必要と考えられた。なお、クロルテトラサイクリンは、室内精度は目標値を満たさなかったが、真度が目標値を満たしており、確認試験としては活用できると考えられた。

#### 4 まとめ

LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中のテトラサイクリン系抗菌性物質の一斉分析法を検討した。構築した分析操作は、牛の筋肉試料2 gを50 mL PP製遠沈管に量り取り、10 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA含有0.1 mol/Lトリス塩酸緩衝液15 mLを加えてホモジナイズした後、振とう抽出、室温で遠心分離して上層を分取、再抽出した上層を合わせて20 mLに定容、半量の10 mLを固相カラムHLB1gで精製した後、メタノール/ヘキサン分配による脱脂操作を行い、メタノール層に窒素ガスを吹き付けて濃縮、水で1 mLに定容後、LC-MS/MSで測定する方法である。その結果は次のとおりであった。

(1) LC-MS/MS測定で7種類のテトラサイクリン系抗菌性物質のSRMモードによる測定を行った。移動相は既報<sup>7)</sup>のとおり、A:0.1 %ギ酸水溶液、B:アセトニトリルを用い、LCカラムをAtlantis T3に変更することにより、感度が向上した。ミノサイクリン

及びチゲサイクリン以外の5物質（テトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン及びデメクロサイクリン）の検量線はマトリックス添加混合標準液0.005 µg/mL~0.2 µg/mLの5点で作成したところ、全ての物質で決定係数( $r^2$ )が0.99以上の直線性が認められ、検量線最低濃度は0.005 µg/mLであった。他方、ミノサイクリン及びチゲサイクリンの検量線最低濃度は、マトリックス添加混合標準液ではそれぞれ0.01 µg/mL及び0.2 µg/mLであったため妥当性評価の対象としなかった。

- (2) テトラサイクリン系抗菌性物質の一斉分析を実施するため、以前検討した牛の筋肉中の抗生物質等の一斉分析法<sup>8)</sup>と同様の抽出法を用い、固相カラムの抽出溶媒をメタノールに変更し、メタノール/ヘキサン分配を実施する精製法により、効率的な分析が可能となった。
- (3) 妥当性評価を行った5物質（テトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン及びデメクロサイクリン）は、全て選択性の目標値を満たしていた。真度及び精度については、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリン及びデメクロサイクリンが目標値を満たしていた。クロルテトラサイクリンは、室内精度は目標値を満たさなかったが、真度が目標値を満たしていたため、確認試験としては活用できると考えられた。

表6 妥当性評価結果

抗生物質名	評価	高濃度			低濃度		
		真度(%)	併行精度(%)	室内精度(%)	真度(%)	併行精度(%)	室内精度(%)
テトラサイクリン	○	87	3	14	84	6	15
クロルテトラサイクリン	X	71	7	27*	72	8	27
オキシテトラサイクリン	○	82	5	10	80	20	20
ドキシサイクリン	○	87	8	12	84	9	10
デメクロサイクリン	○	77	8	8	79	11	11
目標値		70-120	<15	<20	70-120	<25	<30

\* 目標値を満たさなかった

## 文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2015, 490-499, 金原出版, 東京, 2015
- 2) 内山万利子：一動物用抗菌性物質を取り巻く現状 (XⅦ) 一動物用抗菌剤の各論 (その6) テトラサイクリン系抗生物質, 日本獣医師会雑誌, 71, 10-14, 2018
- 3) 農林水産省動物医薬品検査所：令和3年動物用医薬品, 医薬部外品及び医療機器及び再生医療等製品販売高年報 (別冊) 各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量, 農林水産省動物医薬品検査所,  
<https://www.maff.go.jp/nval/iyakutou/hanbaidaka/index.html> (2023.4.5アクセス)
- 4) 藤井良昭, 西村一彦, 橋本 論, 加賀岳朗：液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法による畜肉中のテトラサイクリン系及び $\beta$ -ラクタム系抗生物質の一斉分析法, 分析化学, 66, 369-374, 2017
- 5) 上田友紀子, 藤井良昭, 加賀岳朗, 西村一彦：テトラサイクリン系及び $\beta$ -ラクタム系抗生物質のLC-MS/MS一斉分析法の改良, 北海道衛生研究所所報, 71, 45-48, 2021
- 6) 難波順子, 肥塚加奈江, 金子英史, 赤木正章, 吉岡敏行：LC-MS/MSを用いたはちみつ中の動物用医薬品に関する一斉分析法の検討, 岡山県環境保健センター年報, 42, 67-76, 2018
- 7) 浦山豊弘, 難波順子, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子：LC-MS/MSを用いたはちみつ中のテトラサイクリン系抗生物質に関する一斉分析法の検討, 岡山県環境保健センター年報, 45, 57-62, 2021
- 8) 難波順子, 筒井みちよ, 池田和美, 金子英史, 林隆義：LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中の動物用医薬品に関する一斉分析法の検討, 岡山県環境保健センター年報, 43, 115-124, 2019



【資 料】

## テングタケに含まれるムシモール及びイボテン酸のLC-MS/MSを用いた一斉分析法の検討

Development of simultaneous analysis for muscimol and ibotenic acid  
in *Amanita pantherina* by LC-MS/MS

難波順子, 藤本佳恵, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子

NAMBA Junko, FUJIMOTO Kae, KANEKO Hidefumi, SATO Atsushi, SHIGETA Noriko

### 要 旨

テングタケに含まれる毒成分であるムシモール及びイボテン酸のLC-MS/MSを用いた一斉分析法を検討した。試料0.2 gを採り、0.5 %ギ酸含有メタノール5 mL及び水5 mLで順次抽出し、メタノール：水(1:1)溶液で10 mLに定容したものを抽出液とした。精製法には固相カラムはOasis PRiME HLB及びCaptiva EMR-Lipidを用い、希釈後、LC-MS/MSで測定する分析法を構築した。シイタケを用いて添加回収試験を行ったところ、良好な回収率が得られ、検討した前処理法はキノコ試料に適用可能であることが確認できた。凍結乾燥したテングタケを用いて検査を行ったところ、ムシモールが1500 µg/g、イボテン酸が9500 µg/g検出された。

[キーワード：植物性自然毒, キノコ, ムシモール, イボテン酸, 液体クロマトグラフタンデム質量分析計]

[Key words : Natural plant poison, Mushroom, Muscimol, Ibotenic acid, LC-MS/MS]

### はじめに

毒キノコを食用キノコと誤認して採取、喫食したことによる食中毒が夏の終わりから秋にかけて多発するため、厚生労働省から例年、毒キノコによる食中毒発生予防が注意喚起される等の対策が進められている<sup>1)</sup>。しかし、毒キノコによる食中毒は、平成24～令和3年の10年間に全国で302件発生し、820人が嘔吐や下痢などの症状を訴え、死亡数も3人に上っている。原因となる主な毒キノコは件数が多い順に、ツキヨタケ、クサウラベニタケ、テングタケであり、この3種類で7割以上を占めている<sup>1)</sup>。

自然毒による食中毒発生時の原因物質の特定は、再発防止のための注意喚起はもとより、有効な治療法の選択にも非常に重要である。岡山県で毒キノコの喫食を疑う食中毒事例が発生した場合、調理残品のキノコを形態学的に同定しているが、高度な専門的知識を要するうえ、調理等による形状変化で同定不能となる恐れがある。そのため、LC-MS/MSを用いたキノコ中の毒成分の分析法の確立が必要不可欠である。

今般、検討に当たり毒キノコによる食中毒の中で比較的頻度が高く、標準物質の活用が可能なものをまずの対象とすることとし、テングタケを取り上げて検討を進めた。テングタケは、テングタケ科テングタケ属の毒キノコであり、初夏から秋にかけて広葉樹林の地上に発生し、

茶色の傘に白色のいぼが付く特徴を有している。毒成分としてはムシモール及びイボテン酸を含有し、人が経口摂取した場合、食後30分程で嘔吐、下痢、腹痛など胃腸消化器の中毒症状や、神経系の中毒症状であるめまい、痙攣などが現れる。症状は概ね1日程度で回復するが、重篤な場合は呼吸困難となり、古くは死亡例もある<sup>2)</sup>。今回、これら毒成分の一斉分析法を確立するとともに実サンプルへの適応を検討したので報告する。

### 実験方法

#### 1. 試料

試料として、添加回収試験には市販のシイタケを用い、実サンプルには岡山県農林水産総合センター森林研究所から分与された凍結乾燥したテングタケを用いた。

#### 2. 標準品、固相カラム及び試薬

標準品：富士フィルム和光純薬製ムシモール、

Sigma Aldrich製イボテン酸

標準原液：各標準品1 mgを精秤後、メタノール：水(1:1)溶液に溶解し、10 mLに定容して標準原液(100 µg/mL)を調製した。

混合標準原液：各標準原液(100 µg/mL)を各0.1 mLずつ分取して混合し、メタノール：水(1:1)溶液で10 mLに定容して1 µg/mLの混合標準原液を調製した。

溶媒混合標準溶液：混合標準原液を順次、メタノール：

水 (1:1) 溶液で希釈して調製した。

(5, 10, 50, 100, 200, 400 ng/mL)

固相カラム：Waters製 Oasis PRiME HLB 6 cc(500 mg)

(以下「PRiME500mg」という。)

Waters製 Oasis HLB 20 cc (1g)

(以下「HLB1g」という。)

Varian製 Bond Elut LRC-C18

(以下「LRC-C18」という。)

それぞれ、あらかじめメタノール5 mL, 水5 mL, メタノール：水 (1:1) 溶液5 mLで順次洗浄した後、使用した。

Agilent製 Captiva EMR-Lipid 1mL (40 mg)

(以下「Captiva」という。)

メンブレンフィルター：Millipore製 Millex-LCR 0.45 µm

その他の試薬は残留農薬・PCB用又はLC/MS用を用いた。

### 3. 試験溶液の調製

試験溶液の調製は善光寺らの方法<sup>3)</sup>を参考にした。15 mLポリプロピレンチューブに細切した試料0.2 gを採り、0.5 %ギ酸含有メタノール5 mLを加えてホモジナイズし、5000 × gで10分間遠心分離し上清を分取した。残留物に水5 mLを加え、同様の抽出操作を行い、上清を合わせてメタノール：水 (1:1) 溶液で10 mLに定容したものを抽出液とした。抽出液1 mLを固相カラム PRiME500mgに通液させ、メタノール：水 (1:1) 溶液6 mLで溶出させた。負荷液を含めて溶出した液を水で10 mLに定容し、PRiME500mg精製液とした。その内1 mLをCaptivaに負荷し、2000 × gで2分間、室温で遠心分離し溶出した液を捨てた。次に、再度、PRiME500 mg精製液1 mLを負荷し、2000 × gで2分間、室温で遠心分離し溶出した液を採取し、メンブレンフィルターでろ過したものを試験溶液とした。更に、メタノール：水 (1:1) 溶液で適宜希釈し、LC-MS/MSで測定した。

### 4. LC-MS/MS分析

LCは島津製作所製LC-20A 高圧グラジエントシステムを使用した。MS/MSはAB SCIEX社製API3200 QTrapを使用した。LC-MS/MS測定条件は表1に示した。

### 5. 定量

LC-MS/MS(SRM) 測定で得られた標準溶液及び試験溶液のピーク面積から絶対検量線により試験溶液中の濃度を求め、試料中の含量を算出した。

### 6. 添加回収試験

シタケ中のムシモール及びイボテン酸の濃度が50 µg/g又は200 µg/gになるように混合標準原液を抽出液に添加したのについて、3併行で添加回収試験を行っ

た。精製法は3種類 (①~③) を比較した。精製法①はPRiME500mgに、抽出液1 mLを負荷後、メタノール：水 (1:1) 溶液6 mLで溶出させ、負荷液を含めて溶出した液を水で10 mLに定容した。このPRiME500mg精製液を希釈なし、2, 5倍希釈 (抽出液に換算すると10, 20, 50倍希釈) して測定した。精製法②はCaptivaを用い、抽出液1 mLをカラムに負荷、遠心後廃棄し、再び抽出液

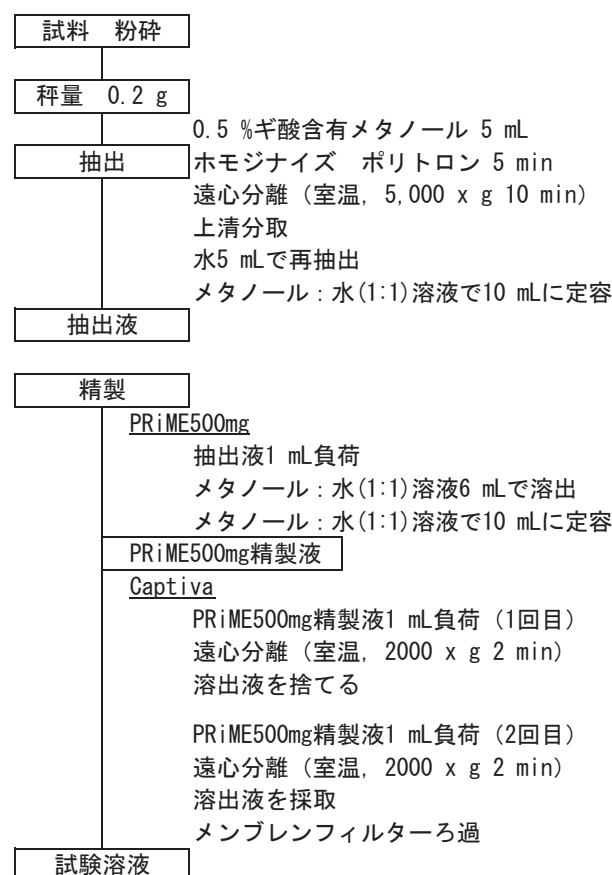


図1 分析フロー

表1 LC-MS/MS条件

Parameter	Setting				
<b>LC Conditions</b>					
LC column	Atlantis HILIC Silica 150 mm × 2.1 mm i.d. 3 µm				
Mobile phase	A:0.5 % formic acid solution B:CH <sub>3</sub> CN				
Gradient (B%)	70 % (0-3 min) → 40 % (21 min) → 70 % (22 min) → 70 % (25 min)				
Column temperature	40°C				
Flow rate	0.2 mL/min				
Injection volume	5 µL				
<b>MS Conditions</b>					
Ionization mode	ESI (positive)				
Ion-spray voltage	5,500 V				
Turbo gas temperature	550°C				
Ion source gas (GS1)	70.0 psi				
Ion source gas (GS2)	50.0 psi				
<b>Transition</b>					
Compounds	Precursor ion (m/z)	Product ion Quantifier (m/z)	Product ion Qualifier (m/z)	Collision energy (V)	Declustering potential (V)
muscimol	115	68	-	27	26
		-	98	17	31
ibotenic acid	159	113	-	15	26
		-	114	21	26



1 mLをカラムに負荷、遠心後分取した。このCaptiva精製液を10, 20, 50, 100倍希釈（抽出液に換算すると10, 20, 50, 100倍希釈）して測定した。精製法③は①で得られたPRiME500mg精製液1 mLをCaptivaに負荷し、遠心後廃棄し、再び1 mLをカラムに負荷、遠心後採取した。このPRiME500mg及びCaptiva精製液を希釈なし、2, 5倍希釈（抽出液に換算すると10, 20, 50倍希釈）して測定した。以下は抽出液に換算した希釈倍率で示す。

## 7. 実サンプルへの適用

テングタケを用いて、精製法③で前処理を行い、試験溶液を5, 10, 50, 100, 200, 400倍希釈（抽出液に換算すると50, 100, 500, 1000, 2000, 4000倍希釈）して測定した。

## 結果及び考察

### 1. LC-MS/MS測定条件

LC-MS/MS測定条件の検討を行った。MS条件は、エレクトロスプレーイオン化法（ESI）の（+）モードを用い、インフュージョンにより定量性及び感度良く測定できる条件を設定した。プリカーサーイオンとして、一番強度が強いイオンである〔M+H〕<sup>+</sup>を選択した場合に得られるプロダクトイオンの中で、一番強度が強いイオンを定量イオン、次に強度が強いイオンを定性イオンとした。LC-MS/MS測定条件を表1に示す。LC条件は、南谷の方法<sup>4)</sup>を参考に、分析カラムにAtlantis HILIC Silica（内径2.1 mm, 長さ15 cm, 粒子径3 μm：Waters社製）、COSMOSIL HILIC（内径2.1 mm, 長さ15 cm, 粒子径3 μm：ナカライテスク社製）及びPC HILIC（内径2.1 mm, 長さ15 cm, 粒子径3 μm：SHISEIDO社製）を用いて比較したところ、Atlantis HILIC Silicaを用いた場合にピーク面積が最大であり、形状も良好であったので採用した。

表2 分析溶媒の組成によるピークの比較

分析溶媒	MeOH : H <sub>2</sub> O (1:1)			H <sub>2</sub> O			MeOH			5 mmol/L ギ酸アンモニウム		
	R. T. (分)	面積 (%)	高さ (%)	R. T. (分)	面積 (%)	高さ (%)	R. T. (分)	面積 (%)	高さ (%)	R. T. (分)	面積 (%)	高さ (%)
ムシモール	4.64	100	100	4.61	101	78	4.67	98	117	4.16	61	181
イボテン酸	3.13	100	100	3.09	87	79	3.19	82	116	3.06	87	73

表3 固相カラムからの溶出率 (%)

固相カラム	PRiME500mg					HLB1g					LRC-C18				Captiva
	溶出液	負荷液	0-2mL	2-4mL	4-6mL	合計	負荷液	0-2mL	2-4mL	4-6mL	合計	負荷液	0-2mL	2-4mL	
ムシモール	0	87	5	2	94	0	1	75	10	86	0	0	0	0	95
イボテン酸	13	86	10	3	112	0	45	42	6	93	47	51	3	100	108

## 2. 測定溶媒の組成

標準品を溶解する溶媒の検討を行った。メタノール：水 (1:1) 溶液に溶解した100 ng/mL混合標準溶液のピーク面積及び高さを100 %とし、水、メタノール及び5 mmol/Lギ酸アンモニウム水溶液に溶解した100 ng/mL混合標準溶液のピーク面積及び高さの比を表2に示した。ピーク面積はムシモール及びイボテン酸共にメタノール：水 (1:1) 溶液に溶解した場合が概ね最大であった。ピーク高さは、ムシモールは5 mmol/Lギ酸アンモニウム水溶液に溶解した場合、イボテン酸はメタノールに溶解した場合が最大であり、ピーク形状が良好であった。操作性やピーク面積を考慮して、メタノール：水 (1:1) 溶液を用いた。

## 3. 定量限界及び検量線の直線性

混合標準溶液をSRM測定したところ、全ての混合標準溶液でS/N>10を満たしていた。検量線は、5~1000 ng/mLの範囲で決定係数 (r<sup>2</sup>)0.996以上の直線性が認められた。

## 4. 前処理法の検討

抽出は善光寺らの方法<sup>3)</sup>を参考にして、試料0.2 gを採り、0.5 %ギ酸含有メタノール5 mL及び水5 mLで順次抽出し、メタノール：水 (1:1) 溶液で10 mLに定容したものを抽出液とした。

精製に用いる固相カラムの検討を行った。Captiva以外のカラムは、コンディショニング後にメタノール：水 (1:1) 溶液に、混合標準溶液を100 ng/mLとなるように添加した負荷液1 mLをカラムに負荷し、メタノール：水 (1:1) 溶液で溶出した。Captivaは負荷液1 mLをカラムに負荷、遠心後廃棄し、再び負荷液1 mLをカラムに負荷、遠心後分取した。結果を表3に示す。PRiME500mg及びHLB1gは溶出液6 mLに、Captivaは溶出液にムシモー

ル及びイボテン酸共に大部分が溶出した。LRC-C18はイボテン酸は溶出液4 mLで溶出したが、ムシモールは全く溶出しなかった。溶出液量及び操作性を考慮して、PRiME500mg及びCaptivaを採用した。

### 5. 添加回収試験結果

検討した前処理法の検証のため、抽出液に混合標準原液を添加したものについて、3併行で添加回収試験を行った。固相カラムと精製された試験溶液の希釈倍率の比較を行った結果を表4に示す。

まず、添加濃度を50 µg/gになるように添加して回収率を求めたところ、回収率は固相カラムの種類による顕著な相違は見られなかった。希釈倍率を上げるほど回収率が改善する傾向が認められ、ムシモールの平均回収率は10倍希釈で60 %程度であるが、100倍希釈で100 %程度と良好な値であり、イボテン酸の平均回収率は10倍希釈で40 %程度であるが、100倍希釈で80 %以上と良好な値となった。希釈することにより、イオン化抑制等のマトリックスの影響が低減し、回収率が改善したと推測された。

佐藤らが報告<sup>5)</sup>しているテングタケからの検出値は、ムシモールが230 ± 69 µg/g、イボテン酸が780 ± 170 µg/gと高濃度であるため、次に、添加濃度を200 µg/gになるように添加して回収率を求めた。回収率は、添加濃度50 µg/gの場合と同様に、固相カラムの種類による顕著な相違は見られなかった。ムシモールの平均回収率は50倍希釈で76 %以上、100、200倍希釈で80 %以上

となり、イボテン酸の平均回収率は50倍希釈で50 %以上、100、200倍希釈で72 %以上と良好な値であった。

これらの結果より、この前処理法は精製法①～③全てがキノコ試料に適応可能であること、抽出液を固相カラムで精製後、抽出液に換算して100倍以上希釈することにより定量が可能であることが確認できた。マトリックスの影響を極力低減させるため、精製法は③を選択することとした。なお、食中毒など緊急時には、①又は②を選択して迅速に対応することも考慮すべきと考えられる。

### 6. 実サンプルへの適用

食中毒の原因キノコであるテングタケを用い、精製法③を採用して前処理を行い、試験溶液を5、10、50、100、200、400倍希釈（抽出液に換算すると50、100、500、1000、2000、4000倍希釈）して測定した。希釈した試験溶液の濃度測定値にそれぞれ希釈倍率を乗じた値を算出し、4000倍希釈の値を100として比較した結果を表5に示す。ムシモール及びイボテン酸共に100倍以上の希釈で80 %以上、500倍以上の希釈で90 %以上となり、希釈によるマトリックスの影響の低減が認められた。シイタケで検討した結果よりも感度が高い結果が得られたが、これはマトリックスの違いのためと推測される。検体中の濃度は、ムシモールが1500 µg/g、イボテン酸が9500 µg/gであった。今回、凍結乾燥した検体であり、キノコ本来の水分含量が不明であるが、シイタケ及びまいたけの水分含量（86 %及び91 %<sup>6)</sup>を参考として、テングタケの水分含量を90 %と仮定して算出すると、テ

表4 シイタケを用いた添加回収試験の回収率 (%)

添加濃度	50 µg/g											
精製法	①				②				③			
希釈倍率	10	20	50	100	10	20	50	100	10	20	50	100
ムシモール	62	75	81	103	62	72	64	100	61	74	84	99
イボテン酸	38	45	56	83	39	46	45	87	38	42	52	87

添加濃度	200 µg/g								
精製法	①			②			③		
希釈倍率	50	100	200	50	100	200	50	100	200
ムシモール	82	84	100	76	80	89	82	82	101
イボテン酸	62	73	78	50	72	75	63	73	81

① PRiME500mg  
② Captiva  
③ PRiME500mg + Captiva

表5 テングタケのキノコ毒検出値の希釈による比較 (%)

希釈倍率	50	100	500	1000	2000	4000
ムシモール	78	81	94	94	97	100
イボテン酸	72	80	96	98	101	100

ングタケ中の含有量は、ムシモールが150 µg/g、イボテン酸が950 µg/gとなった。報告されているテングタケ中の含有量は、善光寺らが報告<sup>3)</sup>しているムシモールが3.6~69 µg/g、イボテン酸が17~119 µg/g、佐藤らが報告<sup>5)</sup>しているムシモールが230 ± 69 µg/g、イボテン酸が780 ± 170 µg/g及び野田<sup>7)</sup>が報告しているムシモールが42~182 µg/g、イボテン酸が441~444 µg/gであり、正確な比較はできないが、今回の値と大きな相違はなく、テングタケ中のムシモール及びイボテン酸の含有量を定量する方法としての活用の可能性が示唆された。

今後は、更に低濃度での添加回収試験及び加工品を用いた添加回収試験を行うために、LC-MS/MS測定条件及び前処理法の再検討を行いたい。また、他の毒キノコの毒成分分析法の開発を進めたいと考える。

## まとめ

LC-MS/MSを用いたキノコ中のムシモール及びイボテン酸の一斉分析法を検討した。試料 0.2 gを採り、0.5 %ギ酸含有メタノール5 mL及び水5 mLで順次抽出し、メタノール：水(1:1)溶液で10 mLに定容したものを抽出液とした。精製法に用いる固相カラムはPRiME500mg及びCaptivaを採用し、希釈後LC-MS/MSで測定する分析法を構築した。添加回収試験を行ったところ、以下の結果を得た。

- (1)ムシモール及びイボテン酸のSRMモードによるLC-MS/MS測定を行った。LCカラムにAtlantis HILIC Silicaを用い、感度良く測定できる条件とした。検量線は、5~1000 ng/mLの範囲で決定係数( $r^2$ )0.996以上の直線性が認められた。
- (2)精製に用いる固相カラムはPRiME500mgのみの方法、Captivaのみの方法及びPRiME500mgの溶出液をCaptivaに負荷する方法を検討したが、回収率に相違はなかったため、PRiME500mgとCaptivaを併用する精製法を採用した。
- (3)シイタケを用いて添加回収試験を行ったところ、抽出溶液を固相カラムによる精製及び抽出液に換算して100倍以上希釈することにより、マトリックスの影響が低減され、良好な回収率が得られた。今回検討した前処理法はキノコ試料に適応可能であることが確認できた。
- (4)凍結乾燥したテングタケ検体中の濃度は、ムシモールが1500 µg/g、イボテン酸が9500 µg/gであり、水分含量等を考慮すると、過去の報告例に相当する濃度であると推定された。

## 謝 辞

毒キノコの供与に御尽力いただいた岡山県農林水産総合センター森林研究所林業研究室藤原直哉特別研究員に感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 厚生労働省ホームページ：健康・医療、毒キノコによる食中毒に注意しましょう、  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/kinoko/index.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/kinoko/index.html) (2023.4.5アクセス)
- 2) 厚生労働省ホームページ自然毒のリスクプロファイル：テングタケ (Amanita pantherina) テングタケ科テングタケ属、  
<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000142712.html> (2023.4.5アクセス)
- 3) 善光寺なおみ、長島典夫、今井浩一、大阪郁恵、石井里枝、高野真理子：毒キノコ及びチョウセンアサガオに含まれる有毒成分のLC-MS/MSを用いた一斉分析法の検討、埼玉県衛生研究所報、48 29-34(2014)
- 4) 南谷臣昭：令和元年度厚生労働科学研究費補助金食品の安全確保推進研究事業 植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究 研究分担報告書「植物性自然毒の多成分同時分析法の開発」
- 5) 佐藤正幸、姉帯正樹：テングタケ類に含有されるイボテン酸及びムシモールの分析、北海道衛生研究所報、64 27-33(2014)
- 6) 金井英男：小型凍結乾燥機を用いた博物館標本の作製、群馬県立自然史博物館研究報告、10 129-134(2006)
- 7) 野田拓史：毒キノコによる食中毒の検査体制の構築(第3報) 福井県衛生環境研究センター年報、19, 36-42(2021)



【資料】

## 岡山県における感染症の患者発生状況について（2022年） Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in Okayama Prefecture (2022)

木下浩行, 北村雅美, 林 隆義, 望月 靖

KINOSHITA Hiroyuki, KITAMURA Masami, HAYASHI Takayoshi, MOCHIZUKI Yasushi

[キーワード：感染症, サーベイランス, 全数把握感染症, 定点把握感染症]

[Key words: Infectious disease, Epidemiological surveillance, Notifiable disease surveillance, Sentinel surveillance]

### 1. 感染症発生動向調査

#### 1.1. 調査方法

感染症発生動向調査事業実施要綱（平成11年3月19日付け健医発第458号。以下「要綱」という。）に基づき、岡山県内の各関係機関から報告された患者情報は感染症サーベイランスシステム（NESID: National Epidemiological Surveillance of Infectious Disease）又は新型コロナウイルス感染症等情報把握・管理支援システム（HER-SYS: Health center Real-time Information-sharing System on COVID-19）により、国立感染症研究所感染症疫学センターへ報告され、都道府県の情報が集計されている。2022年に集計された全国の情報と比較しつつ、県内の発生状況を解析した。なお、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の発生状況は別稿にまとめる。

#### 1.2 届出対象感染症

対象となる感染症は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（平成10年法律第104号。以下「感染症法」という。）により定められており、一類～五類感染症、新型インフルエンザ等感染症に分類されている。一類～四類感染症及び新型インフルエンザ等感染症は全数把握対象に、五類感染症は、全数把握対象と定点把握対象に区分されている（表1）。2021年当初、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は指定感染症であったが、同年2月13日に新型インフルエンザ等感染症に整理されたことから、現在指定感染症はない。なお、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は2023年5月8日から五類感染症として定点把握対象となった。

##### 1.2.1 全数把握感染症

全数把握感染症とは、発生数が希少、又は周囲への感染拡大防止を図るため、発生した全ての患者を把握することが必要な感染症で、医師は該当する患者を診断したときには、最寄りの保健所へ届出することが、感染症法上規定されている。

##### 1.2.2 定点把握感染症

定点把握感染症とは、発生動向の把握が必要な感染症のうち、患者数が多数で、その全てを把握する必要がないもので、指定された医療機関（定点）から発生状況が週単位又は月単位で届出されることになっている。定点医療機関は、要綱の基準に基づき選定されており、岡山県の場合、小児科定点54、内科定点30、眼科定点12、性感染症定点17、基幹定点5が設定され、小児科定点と内科定点をあわせて、インフルエンザ定点84となっている。

定点把握感染症については、全国や過去のデータの比較においては、全ての定点医療機関から報告される患者数を定点医療機関数で割った値（以下「定点あたり報告数」という。）、又は年間の患者報告数を定点医療機関数で割った値（以下「定点あたり累積報告数」という。）を用いる。

#### 1.3 調査期間

全数把握感染症（表1-1）及び月報告の定点把握感染症（表1-2-②）の調査期間は、2022年1月1日～12月31日、週報告の定点把握感染症（表1-2-①）については、2022年第1週～第52週（2022年1月3日～2023年1月1日）とした。なお、インフルエンザ及び感染性胃腸炎は、流行時期にあわせて、グラフ及び本文の内容を第36週～翌年第35週（2021年9月6日～2022年9月4日）とした。いずれの感染症も診断日を基準としており、「感染原因・経路」については、「推定」も含むものとした。

## 2 結果

### 2.1 全数把握感染症の発生状況（表2, 3）

#### 2.1.1 一類感染症

一類感染症の届出はなかった。

#### 2.1.2 二類感染症

二類感染症は、結核の届出があった。急性灰白髄炎、



ジフテリア、重症急性呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属SARSコロナウイルスであるものに限る。)、中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属MERSコロナウイルスであるものに限る。)、鳥インフルエンザ(H5N1)、鳥インフルエンザ(H7N9)の届出はなかった。

i) 結核

結核は246例の届出があった。2019年までは300例以上の届出が続いていたが、2020年は252例、2021年は250例となり、2022年は2020年及び2021年とほぼ同数であった(図1)。病型は、患者145例、無症状病原体保有者100例、疑似症患者1例であり、届出のうち17例が医療・介護関係者(看護師、介護職など)であった。性別は男性143例、女性103例で、年齢階級別(図2)では60歳以上の高齢者が63.4%を占めていた。また、昨年と同様に、20歳代の男性で届出が多く見られた(30例、12.2%)。なお、2022年の日本の結核罹患率(人口10万対)は8.2であり、減少傾向が継続しているが、2020年以降の減少については、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の影響も考えられている。そのような中、近年全国的に増加傾向にあった20歳代の若年層での新登録患者数は昨年と同様に多く(2021年は11,519例中

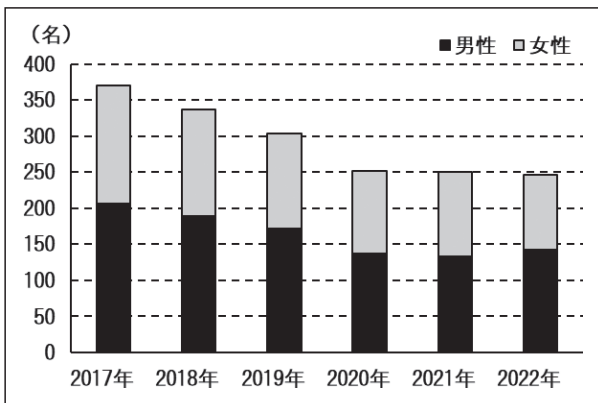


図1 結核 年次別発生状況

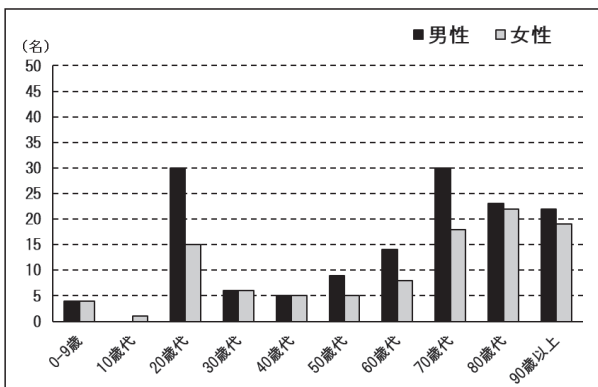


図2 結核 年齢階級別発生状況

930例(8.1%)、2022年は10,235例中777例(7.6%)、引き続き、同年代における外国生まれの患者の発生(2021年、2022年の新登録患者における割合はそれぞれ72.6%、77.5%)が注目される<sup>1)</sup>。

2.1.3 三類感染症

三類感染症は、腸管出血性大腸菌感染症の届出があった。コレラ、細菌性赤痢、腸チフス、パラチフスの届出はなかった。

i) 腸管出血性大腸菌感染症

腸管出血性大腸菌感染症は67例の届出があり、前年(81例)から減少し、例年並みであった(図3)。病型は、患者44例、無症状病原体保有者23例であった。性別は

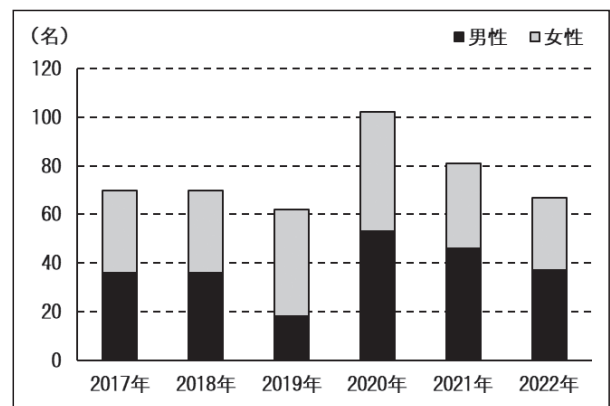


図3 腸管出血性大腸菌感染症 年次別発生状況

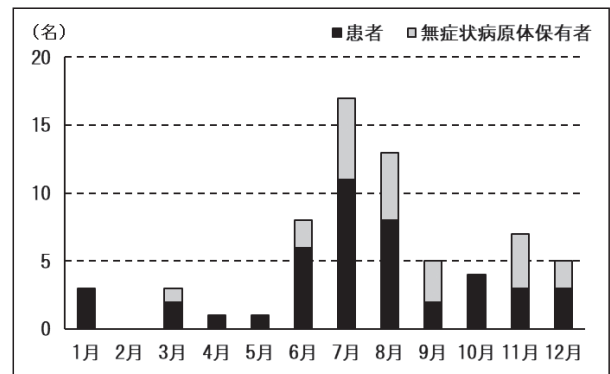


図4 腸管出血性大腸菌感染症 月別発生状況

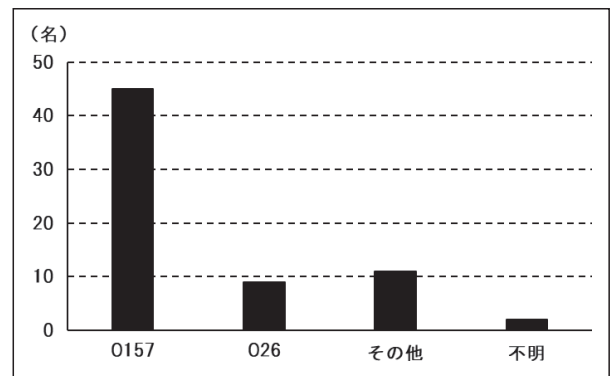


図5 腸管出血性大腸菌感染症 O血清群発生状況

男性37例、女性30例で、年齢階級別では、30歳代（15例）、20歳代（13例）、10歳代（10例）の順に多かった。月別発生状況は7月（17例）、8月（13例）、6月（8例）の順に多くなっており、夏に届出が多かった（図4）。血清群別の内訳は、図5のとおりO157、次いでO26が多く、また、「その他」の内訳は、O8、O103及びO145が各2例、O111、O128、O156、O166及びO174が各1例であった。

感染原因は経口感染が31例、接触感染が9例、不明が28例（重複あり）であり、「焼肉の喫食」が20例あった。

#### 2.1.4 四類感染症

四類感染症は、E型肝炎、オウム病、重症熱性血小板減少症候群、つつが虫病、デング熱、日本紅斑熱、マラリア、レジオネラ症の届出があった。その他の届出はなかった。

##### i) E型肝炎

E型肝炎は2例の届出があり、50歳代及び80歳代の男性各1例であった。推定感染地域は全て県内で、感染原因・経路は不明であった。

##### ii) オウム病

オウム病は1例の届出があり、50歳代の男性であった。感染地域は、国内（県外）で、感染原因・経路は羽毛布団からの感染を疑う症例であった。

##### iii) 重症熱性血小板減少症候群

重症熱性血小板減少症候群は4例の届出があり、感染症法で全数把握疾患となった2013年以降で、最多である2020年の7例、2021年の6例に次ぐ届出数であった（図6）。2013年からの累計報告数は27例となった。5～6月と、9月に届出があり、性別は男性3例、女性1例で、年齢階級別では60歳代及び80歳代が各2例であった。推定感染地域は全て県内で、感染原因・経路として、2例は動物・蚊・昆虫等からの感染が疑われ（山中での畑仕事1例、動物からの感染が疑われる例が1例）、2例

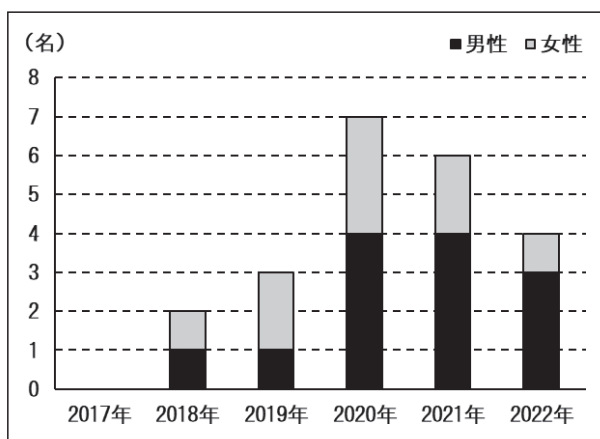


図6 重症熱性血小板減少症候群 年次別発生状況

は不明であった。なお、この内2例は、死亡の転帰となった。

##### iv) つつが虫病

つつが虫病は4例の届出があり、前年（4例）と同数であった。4月（1例）、11月（2例）及び12月（1例）に届出があり、性別は男性3例、女性1例で、年齢階級別では60歳代が2例、70歳代及び80歳代が各1例であった。推定感染地域は、全て県内で、感染原因・経路は、全て動物・蚊・昆虫等からの感染が疑われる例（うち刺し口ありが3例）であった。

##### v) デング熱

デング熱は3例の届出があり、2019年（7例）以来の届出であった。性別は男性1例、女性2例で、年齢階級別では20歳代が2例、30歳代が1例であった。推定感染地域は、全て国外（ベトナム及びネパール）で、感染原因・経路は、全て動物・蚊・昆虫等からの感染であった。新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行に伴う海外渡航にかかる規制が2022年は緩和されたことにより、2019年以降の届出となったと考えられた。

##### vi) 日本紅斑熱

日本紅斑熱は9例の届出があり、前年と同数であった。2009年の県内初の届出以降で最多となった2020年（11

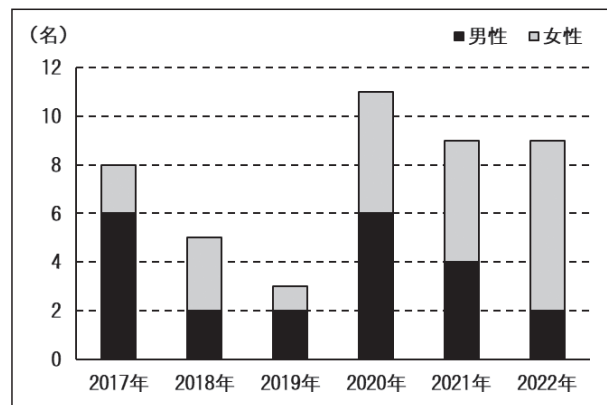


図7 日本紅斑熱 年次別発生状況

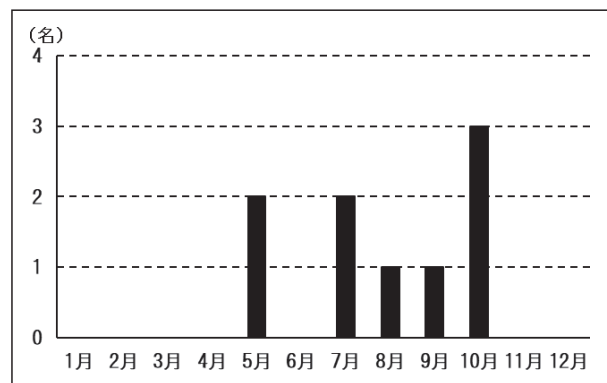


図8 日本紅斑熱 月別発生状況

例)に次ぐ届出数であった(図7)。2009年からの累計報告数は63例となった。10月(3例),5月及び7月(各2例),8月及び9月(各1例)に届出があり(図8),性別は男性2例,女性7例で,年齢階級別では70歳代が4例,50歳代及び90歳代が各2例,80歳代が1例であった。推定感染地域は,全て国内(県内7例,県外2例)で,刺し口が6例で確認された。

vii) マラリア

マラリアは2例の届出があり,2015年(2例)以来の届出であった。性別は男性1例,女性1例で,年齢階級別では20歳代及び30歳代が各1例であった。推定感染地域は,全て国外(ガーナ)で,感染原因・経路は,全て動物・蚊・昆虫等からの感染であった。

viii) レジオネラ症

レジオネラ症は47例の届出があった(図9)。病型は肺炎型が44例,ポンティアック熱型が2例,無症状病原体保有者が1例であった。性別は男性36例,女性11例で,年齢階級別では70歳代(17例),80歳代(12例),60歳代(10例)の順に多かった(図10)。感染原因・経路は,水系感染15例,塵埃感染2例,その他3例,不明27例であった。水系感染のうち,入浴施設の利用が5例で確認された。塵埃感染のうち,1例で草刈り等の野外活動の履歴が確認された。

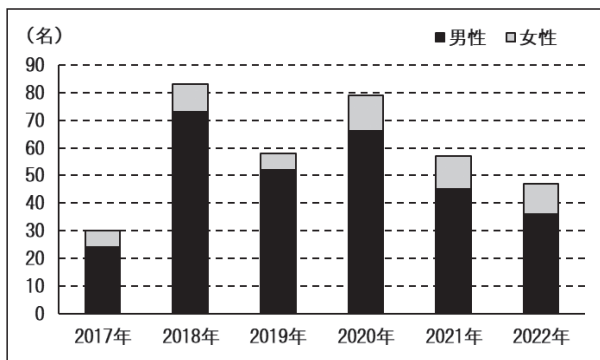


図9 レジオネラ症 年次別発生状況

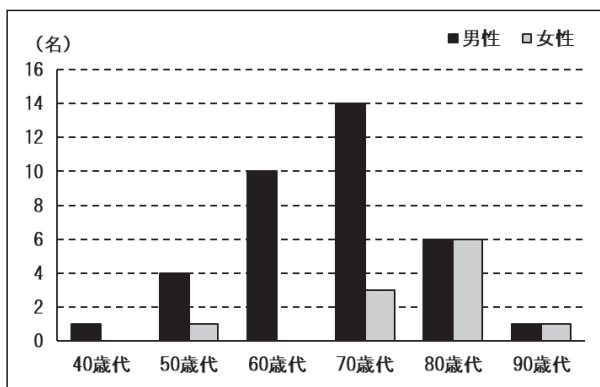


図10 レジオネラ症 年齢階級別発生状況

2.1.5 五類感染症(全数把握対象)

五類感染症では,16の感染症で届出があった。急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く。),クリプトスポリジウム症,ジアルジア症,侵襲性髄膜炎菌感染症,先天性風しん症候群,バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症,麻しん,薬剤耐性アシネトバクター感染症の届出はなかった。

i) アメーバ赤痢

アメーバ赤痢は10例の届出があり,前年(14例)から減少した(図11)。病型は全て腸管アメーバ症であった。性別は全て男性で,年齢階級別では50歳代(4例),60歳代(3例),70歳代(2例),80歳代(1例)の順に多く,患者は全て50歳以上の成人であった(図12)。推定感染地域は県内3例,不明7例であった。感染原因・経路は性的接触3例,その他は不明であった。

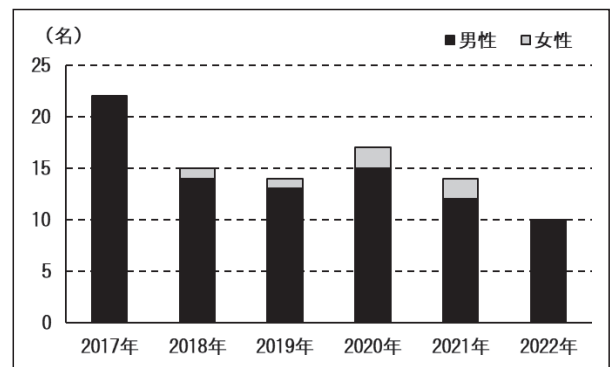


図11 アメーバ赤痢 年次別発生状況

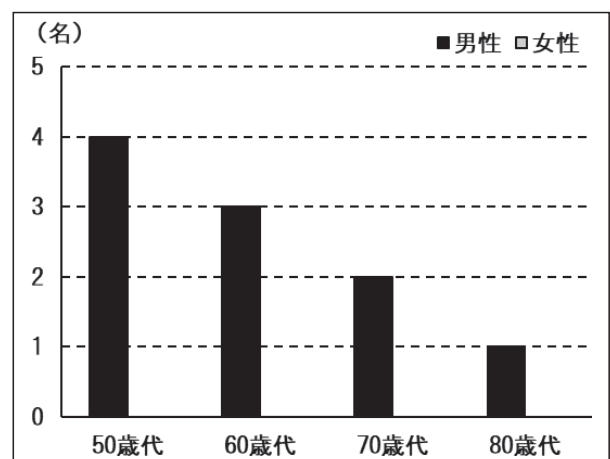


図12 アメーバ赤痢 年齢階級別発生状況

ii) ウイルス性肝炎(E型肝炎及びA型肝炎を除く。)

ウイルス性肝炎は1例の届出があり,前年(4例)から減少した(図13)。20歳代の女性で,病型はB型であった。推定感染地域は県内で,感染原因・経路は性的接触であった。

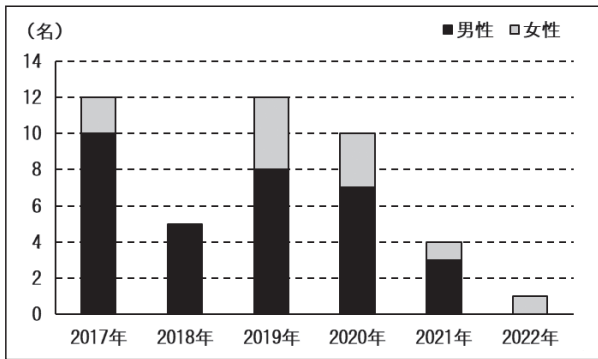


図13 ウイルス性肝炎 年次別発生状況

iii) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 (現 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症 (2023年5月26日付けで名称変更))

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は23例の届出があり、前年(32例)から減少した(図14)。性別は男性14例、女性9例で、年齢階級別(図15)では70歳代及び80歳代(各7例)、60歳代(4例)の順に多く、60歳以上で87.0%を占めていた。感染原因・経路は、以前からの保菌(12例、うち腸管・消化管(4例)が最多)、手術部位感染(3例)の順に多かった。検出された菌種は、*Klebsiella aerogenes*(10例)、*Enterobacter cloacae*(6例)、

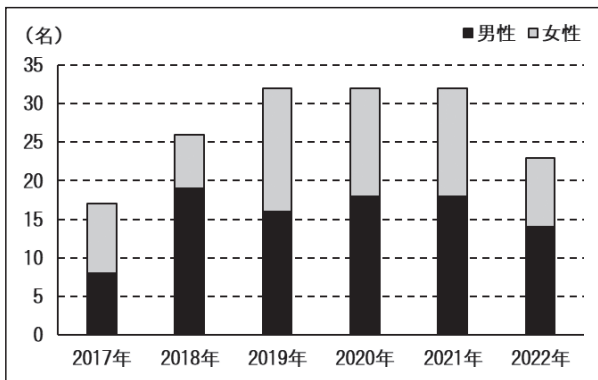


図14 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 年次別発生状況

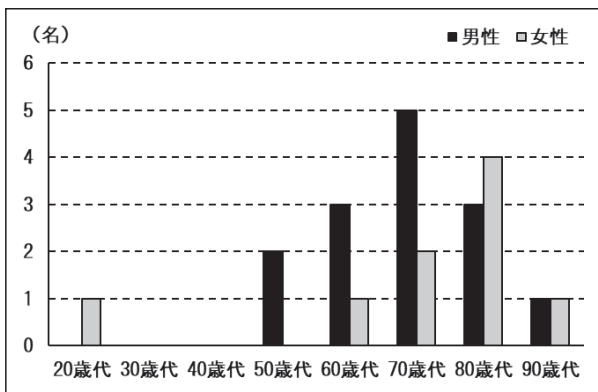


図15 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 年齢階級別発生状況

*Klebsiella pneumoniae*(4例)、*Enterobacter sakazakii*、*Morganella morganii*及び*Serratia marcescens*(各1例)の順に多かった。

iv) 急性脳炎(ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。)

急性脳炎は10例の届出があり、前年(8例)から増加した(図16)。病原体の検出は、新型コロナウイルス(4例)、水痘帯状疱疹ウイルス(2例)、アデノウイルス及びヒトヘルペスウイルス6(各1例)、病原体不明(2例)であった。性別は男性1例、女性9例で、年齢階級別では10歳未満(8例)、40歳代及び70歳代(各1例)であった。

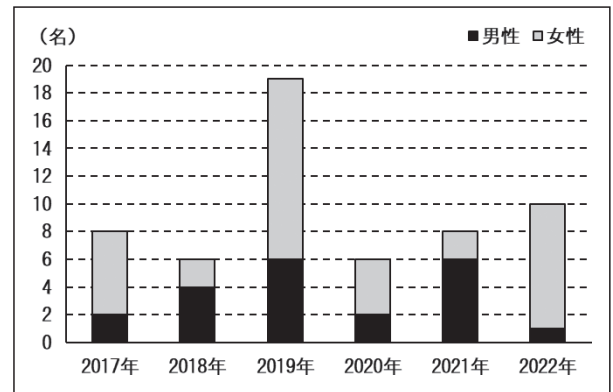


図16 急性脳炎 年次別発生状況

v) クロイツフェルト・ヤコブ病

クロイツフェルト・ヤコブ病は2例の届出があった。性別は全て男性で、年齢階級別では60歳代及び80歳代(各1例)であった。病型は、全て孤発性プリオン病(古典型)であった。

vi) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は5例の届出があり、前年(4例)から増加した(図17)。性別は男性3例、女性2例で、年齢階級別では70歳代(2例)、60歳代、80歳代及び90歳代(各1例)であった。感染原因・経路は、全て創傷感染であった。

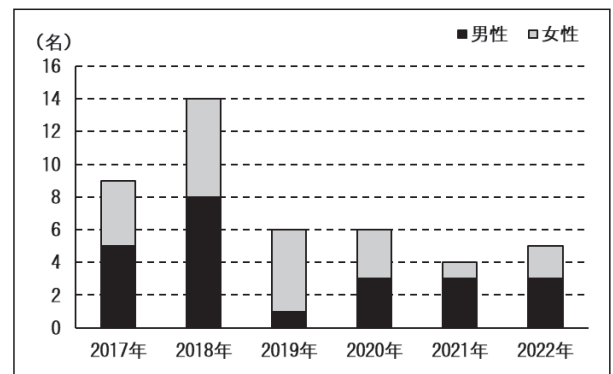


図17 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 年次別発生状況



vii) 後天性免疫不全症候群

後天性免疫不全症候群は6例の届出があり、前年（13例）から減少した（図18）。性別は全て男性で、年齢階級別では20歳代及び30歳代（各2例）、40歳代及び60歳代（各1例）であった（図19）。病型はAIDS3例、無症候性キャリア3例であった。推定感染地域は、国内5例、不明1例であった。感染原因・経路は性的接触5例（異性間4例、同性間3例（重複あり））、不明1例であった。後天性免疫不全症候群の感染症法に基づく届出様式については、2018年1月1日から「診断時のCD4陽性Tリンパ球数（CD4値）」が記載項目として新たに追加された。CD4値は200/mm<sup>3</sup>以下になるとカリニ肺炎等の日和見感染症を発症しやすくなる<sup>2)</sup>が、2022年の届出時点でCD4値が200/mm<sup>3</sup>以下であった進行した症例が4例あり、うち3例はCD4値が50/mm<sup>3</sup>近く又は下回った免疫機能が極めて低下した状況で診断され、病型がAIDSであった。

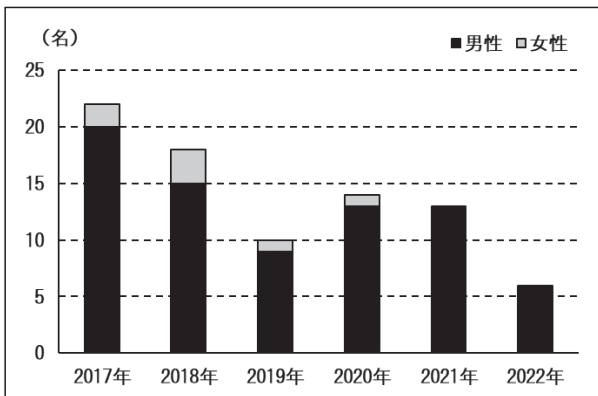


図18 後天性免疫不全症候群 年次別発生状況

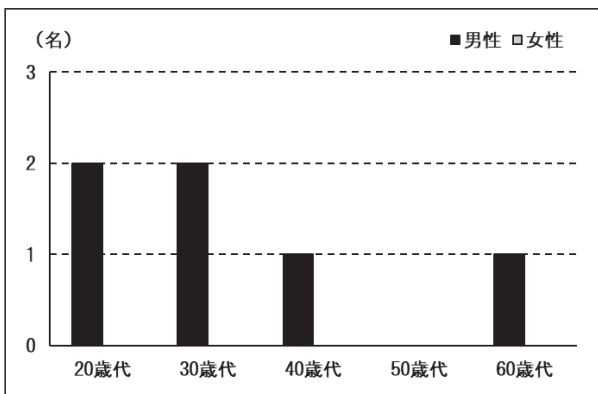


図19 後天性免疫不全症候群 年齢階級別発生状況

viii) 侵襲性インフルエンザ菌感染症

侵襲性インフルエンザ菌感染症は1例の届出があった。60歳代の女性で、感染原因・経路は不明であった。

ix) 侵襲性肺炎球菌感染症

侵襲性肺炎球菌感染症は22例の届出があり、前年（17例）から増加した（図20）。性別は男性11例、女性11

例で、年齢階級別では、70歳代及び80歳代（各5例）、10歳未満（4例）の順に多かった（図21）。ワクチン接種歴別でみると接種歴あり9例、接種歴なし5例、不明8例であった。

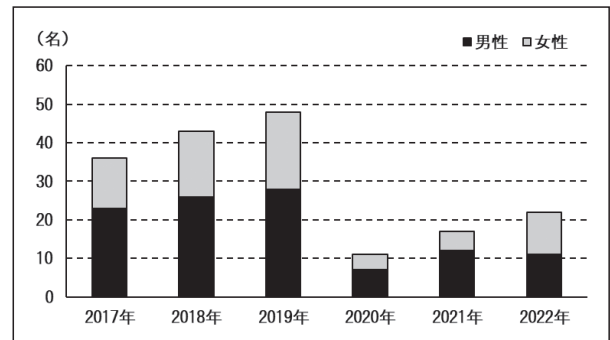


図20 侵襲性肺炎球菌感染症 年次別発生状況

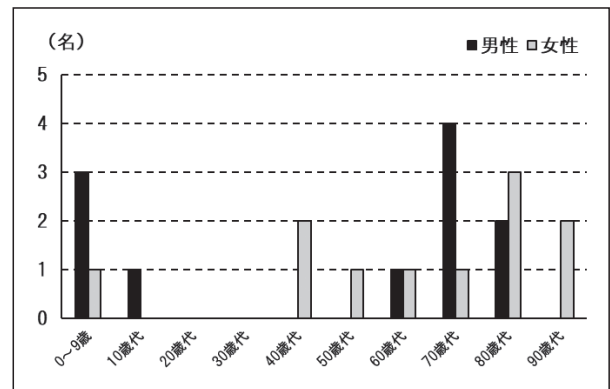


図21 侵襲性肺炎球菌感染症 年齢階級別発生状況

x) 水痘（入院例に限る。）

水痘（入院例に限る。）は4例の届出があり、前年（9例）から減少した。性別は男性3例、女性1例で、年齢階級別では20歳代、50歳代、70歳代及び90歳代（各1例）であった。感染原因・経路は、水痘患者との接触2例、院内感染1例、不明1例であった。

xi) 梅毒

梅毒は197例の届出があった。感染症法が施行された1999年以降で最多の届出数となった（図22）。病型は早期顕症梅毒Ⅰ期97例、早期顕症梅毒Ⅱ期67例、晩期顕症梅毒1例、無症状病原体保有者32例であった。性別は男性139例、女性58例で、年齢階級別では、男性は20歳代（44例）、40歳代（32例）、30歳代（31例）の順、女性は20歳代（33例）、40歳代（9例）、10歳代、30歳代及び50歳代（各5例）の順に多かった（図23）。特に女性は10歳代及び20歳代で女性全体の65.5%を占めており、若年女性の届出数の多い状況が継続している（図24）。推定感染地域は国内181例（県内134例、県外44例、都道府県不明5例）、不明6例であった（重複あり）。感



染原因・経路は、性的接触189例（異性間168例，同性間6例，詳細不明16例（重複あり）），不明8例であった。

梅毒の感染症法に基づく届出様式について，2018年1月1日から「性風俗産業の従事歴・利用歴の有無（直近6か月以内）」，「HIV感染症合併の有無」，「過去の治療歴の有無」，「妊娠の有無」が記載項目として新たに追加された。「性風俗産業の従事歴・利用歴の有無」については，2022年は，男性感染者（139例）のうち75例（54.0%）が直近6か月以内の性風俗産業の利用歴があり，年齢階級別では，40歳代（21例）の利用が最も多く，次いで30歳代（18例），20歳代及び50歳代（各14例）の順で多かった（図25）。また，女性感染者（58例）のうち22例（37.9%）が直近6か月以内の性風俗産業の従事歴があり，年齢階級別では，20歳代（14例，63.6%）が最も多かった（図26）。2020年及び2021年と比較すると，女性の感染者数はほぼ同数であるが，性風俗産業従事歴の割合は2020年よりも増加している（2020年は27.6%，2021年は44.1%）。「HIV感染症合併の有無」については，2022年は，男性感染者のうち3例がHIV感染症合併があり，20歳代，30歳代，60歳代で各1例であった。女性感染者では，HIV感染症の合併はなかった。「過去の治療歴の有無」については，男性が3例（20歳代，30歳代及び40歳代が各1例，1年以内が1例，1年以上前が2例），女性が5例（20歳代が3例，50歳代が2例，1年以内が1例，1年以上前が4例）で治療歴があった。「妊娠の有無」については，2022年は7例で妊娠が確認され，妊娠10週から34週で感染が判明していた。年齢階級は20歳代及び30歳代であった。妊娠が確認されたもののうち性風俗産業従事歴は，2例が有，2例が無，3例が不明であった。

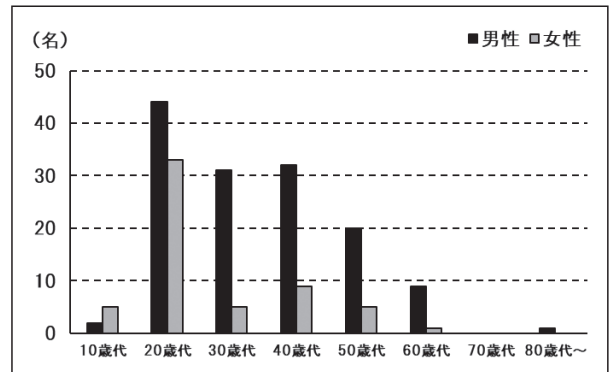


図23 梅毒 年齢階級別発生状況

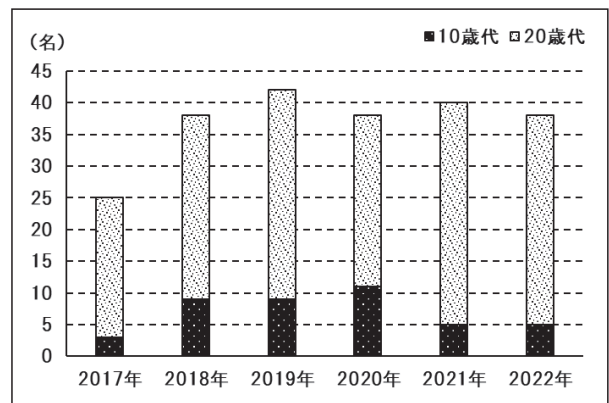


図24 梅毒 年次別 (10歳代及び20歳代女性)

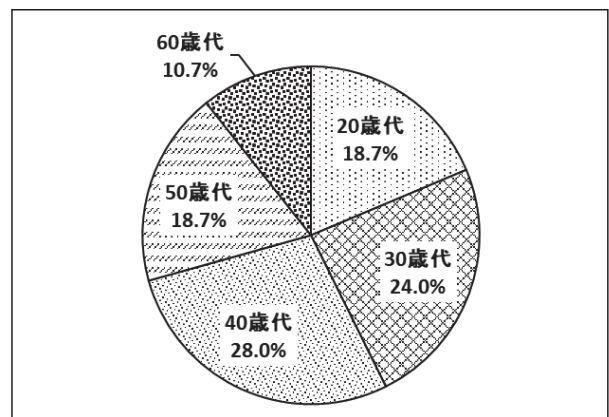


図25 梅毒 性風俗産業利用歴有 (2022年, 男性)

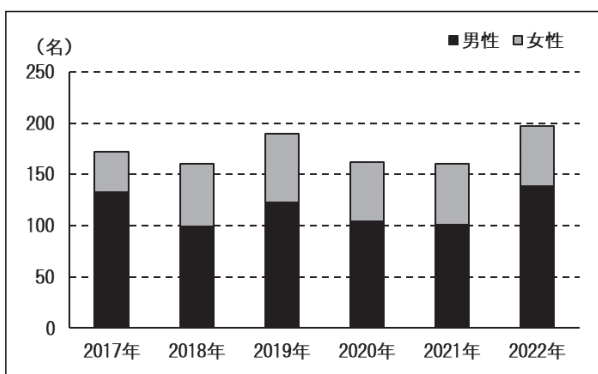


図22 梅毒 年次別発生状況

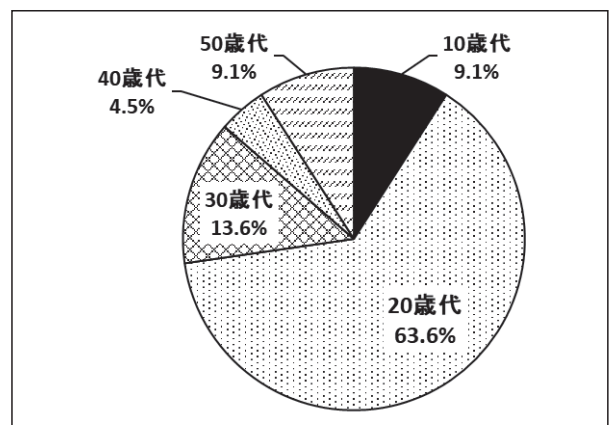


図26 梅毒 性風俗産業従事歴有 (2022年, 女性)

xii) 播種性クリプトコックス症

播種性クリプトコックス症は3例の届出があった。性別は男性1例, 女性2例で, 年齢階級別では80歳代(2例), 70歳代(1例)であった。感染原因・経路は免疫不全2例, 鳥類の糞などとの接触1例, 不明1例(重複あり)であり, 推定感染地域は全て国内(県内2例, 県外1例)であった。

xiii) 破傷風

破傷風は, 3例の届出があった。性別は全て男性で, 年齢階級別では70歳代(2例), 60歳代(1例)であった。感染原因・経路は創傷感染1例, その他2例であった。

xiv) バンコマイシン耐性腸球菌感染症

バンコマイシン耐性腸球菌感染症は, 1例の届出があった。60歳代の男性で, 感染原因・経路は医療器具関連感染であった。

xv) 百日咳

百日咳は, 17例の届出があり, 前年(15例)とほぼ同数であった。2018年(187例), 2019年(428例)と増加傾向であったが, 2020年(92例), 2021年(15例)と減少し, 最少の前年に続き少ない発生状況であった。性別は男性8例, 女性9例で, 月別の発生状況に明確な差は見られなかった。

xvi) 風しん

風しんは, 1例の届出があり, 70歳代の男性であった。

2.2 定点把握感染症(五類感染症)の届出状況

2.2.1 小児科・内科定点における週報告の感染症(表4)

小児科・内科定点における週報告の感染症のうち, 主な感染症については, 以下のとおりである。

i) インフルエンザ(2021/22年シーズン流行のまとめ)(図27)

2021/22年シーズン(2021/9/6~2022/9/4), 岡山県の患者報告数は, 67人であった。これは前シーズン(2020/21年シーズン)に引き続き, 少数の報告であり, 感染症発生動向調査開始以降のシーズン(2000/01年シーズン以降)で最も少なかった。2021年第44週(11/1~11/7)に初めての患者が報告されてから, 散発的に患者が発生した。最も患者報告数が多かったのは, 2022年第6週(2/7~2/13)の7人(定点あたり0.08人)であった。2021/22年シーズンは, 前シーズンと同様に注意報発令基準である定点あたり1.00人を上回ることがなく, 注意報が発令されなかった。岡山県でインフルエンザ注意報の制度が開始された2005/06年シーズン以降で注意報が発令されなかったのは, 前シーズンに続いて2シーズン目であった。全国でも同様に, シーズンを通して定点あたり1.00人を上回ることがなく, 2022年第29週(7/18~7/24)の187人(定点あたり0.04人)が, 今シーズンの最多の報告数となったが, 7月以降のシーズン終

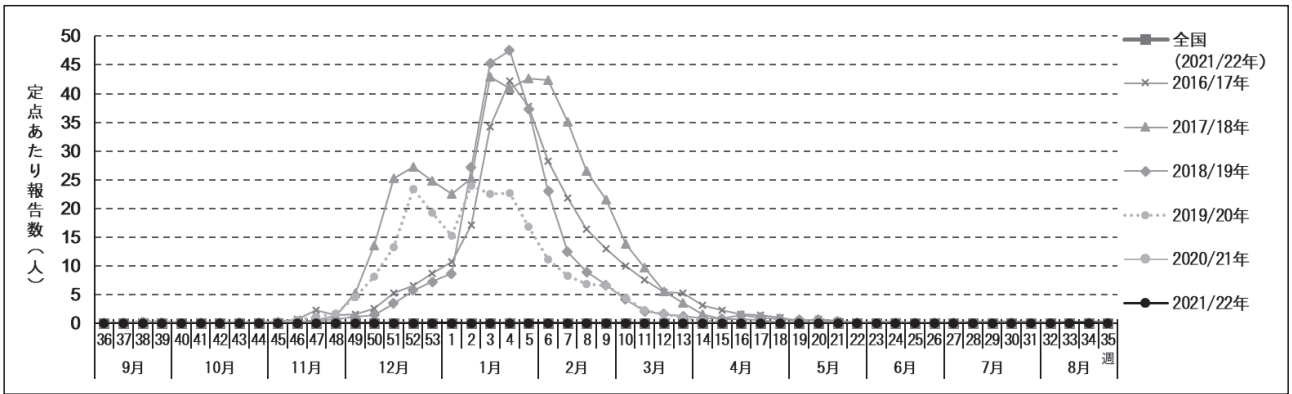


図27 インフルエンザ 発生状況

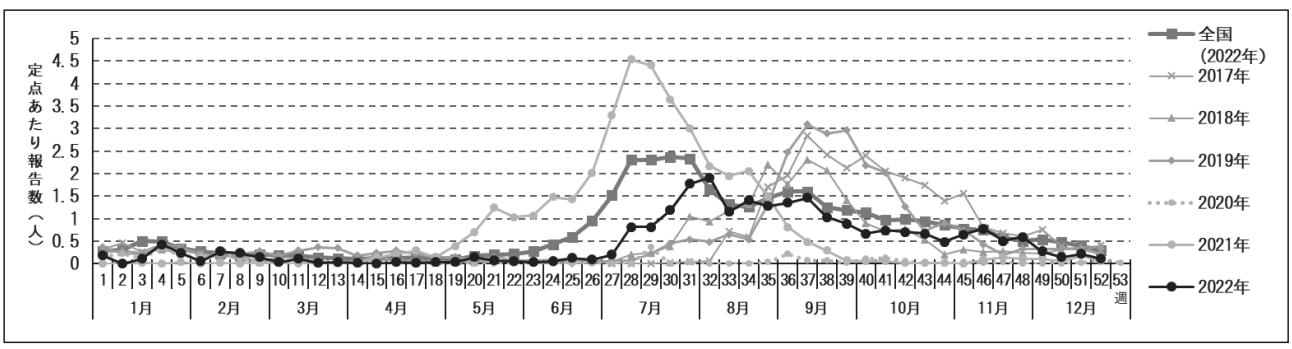


図28 R Sウイルス感染症 発生状況

盤に報告数の増加が見られた。岡山県も同様にシーズン終盤に散発的な患者の発生が見られた。岡山県の年齢階級別では80歳以上が19.4%と最も高かったが、この割合の評価にあたっては報告数が少ないことに留意する必要がある。

2021/22年シーズンに岡山県環境保健センターで検出されたインフルエンザウイルスは、前シーズンに引き続きなかった。全国で2021/22年シーズンに検出されたインフルエンザウイルスは55株であり、AH3亜型53株、次いでAH1pdm09型2株であった<sup>3)</sup>。

ii) RSウイルス感染症 (図28)

RSウイルス感染症は、定点あたり累積報告数が24.44人であり、前年(39.44人)から減少した。新型コロナウイルス感染症(COVID-19)流行前は、例年流行のピー

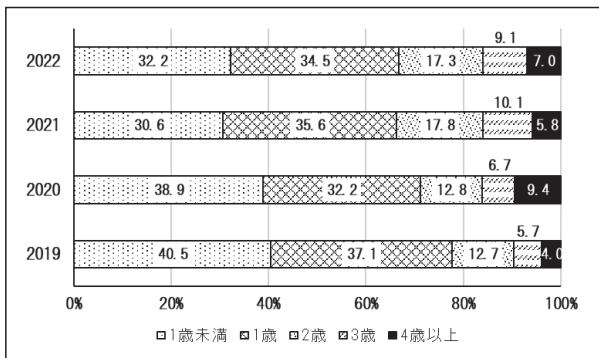


図29 RSウイルス感染症 年齢階級別割合の推移

クは9月中旬(第37週)に見られていたが、2021年は7月(第28週)に流行のピークが見られ、2022年も8月(第32週)にピークが見られた。全国も同様に7月にピークが見られた。年齢階級別では2歳以下の割合が全体の83.9%を占めた(図29)。

iii) 咽頭結膜熱 (図30)

咽頭結膜熱は、定点あたり累積報告数が5.89人であり、前年(7.11人)から減少した。年間を通して全国と同様に推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の96.5%を占めた。

iv) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 (図31)

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎は、定点あたり累積報告数が6.44人であり、前年(13.17人)から減少した。全国と同様に、年間を通して低いレベルで推移した。年齢階級別では、6歳以下の乳幼児の割合が全体の64.9%を占めた。

v) 感染性胃腸炎 (図32)

感染性胃腸炎は、2022年1月にピークがあったが(第3週, 8.56人)、その他はほぼ横ばいで推移した。シーズンを通して全国と同様に推移した。年齢階級別では、6歳以下の乳幼児の割合が全体の70.7%を占めた。

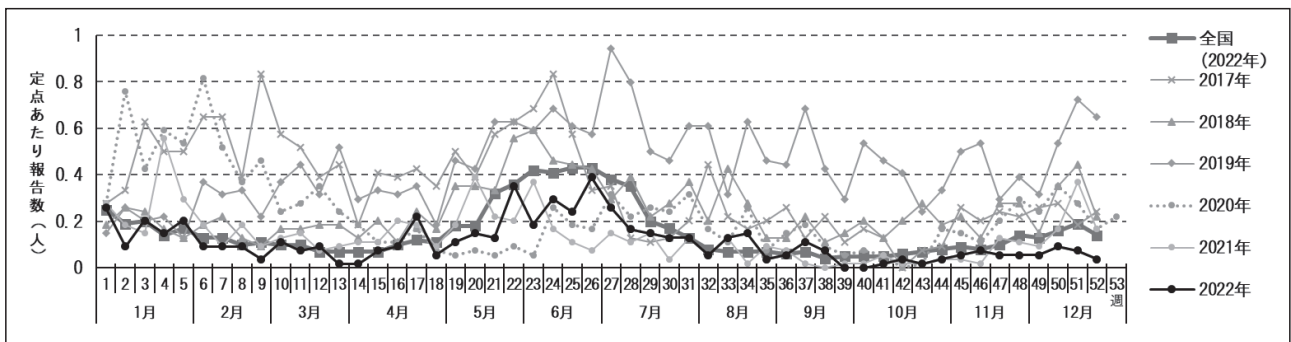


図30 咽頭結膜熱 発生状況

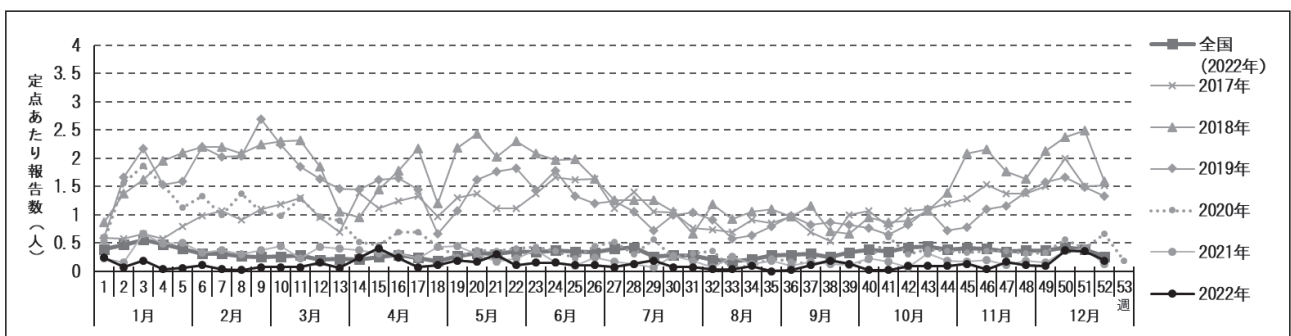


図31 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 発生状況

vi) 水痘 (図33)

水痘は、定点あたり累積報告数が3.61人であり、前年(4.85人)から減少した。過去5年間と比較すると、最も少なかった。年間を通して全国とほぼ同様に推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の52.3%を占めた。

vii) 手足口病 (図34)

手足口病は、定点あたり累積報告数が21.30人であり、前年(38.94人)から減少した。新型コロナウイルス感染症流行前は、例年流行のピークは夏季(6月~7月)に見られていたが、2022年は、全国で7~9月に増加が見られた一方、岡山県では目立った流行のピークは見ら

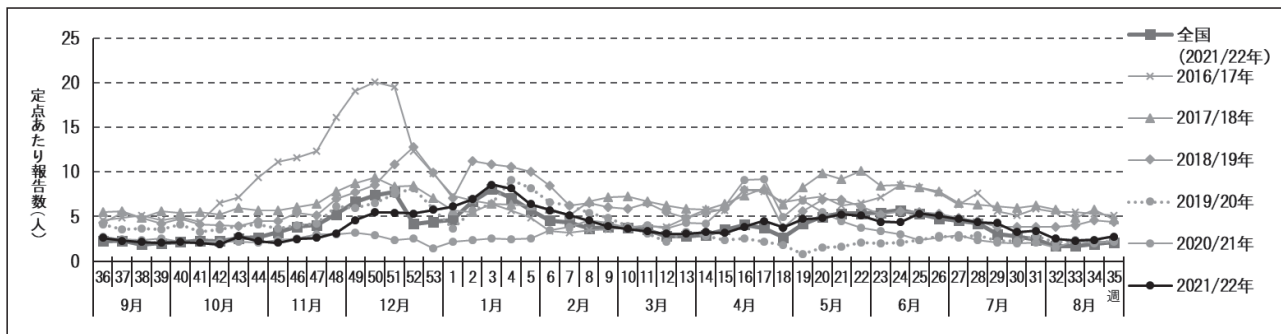


図32 感染性胃腸炎 発生状況

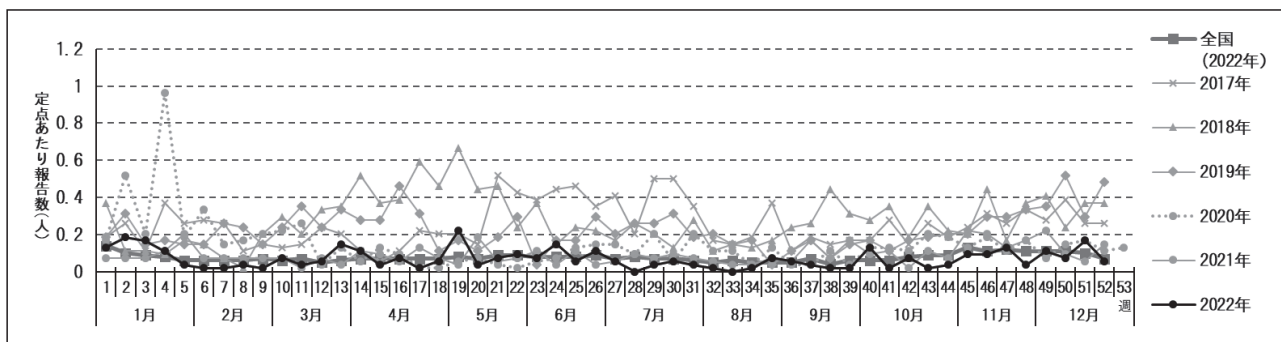


図33 水痘 発生状況

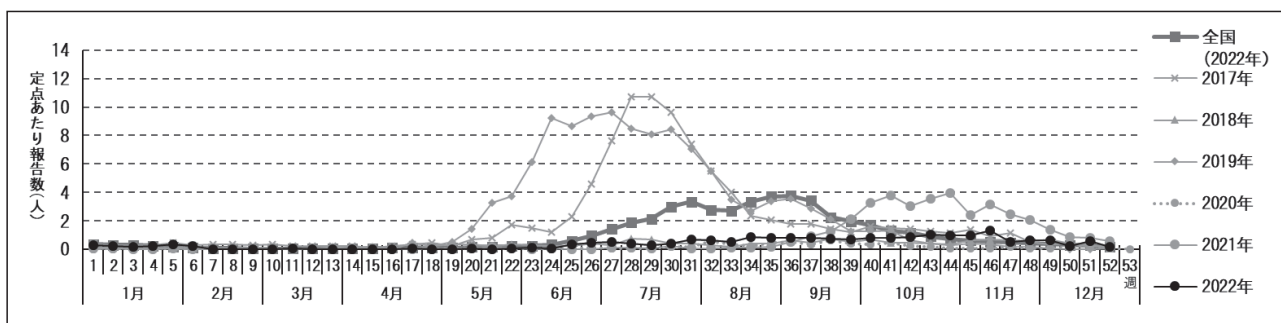


図34 手足口病 発生状況

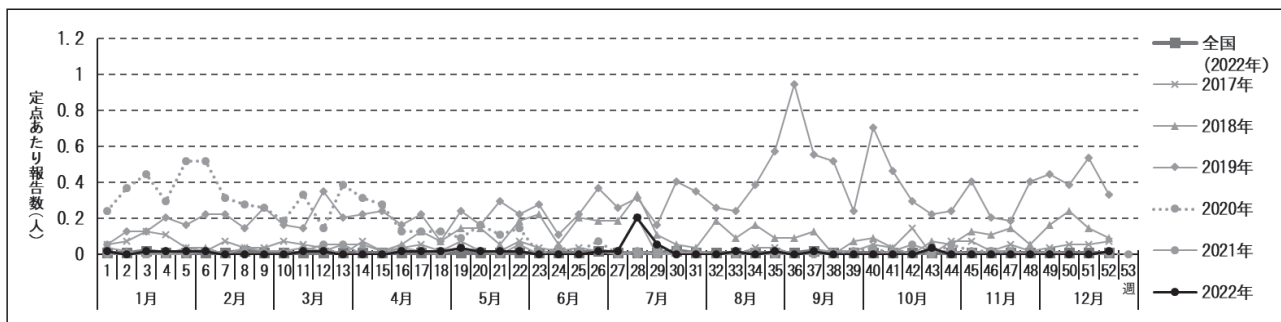


図35 伝染性紅斑 発生状況



れず（最大で第46週，1.33人），年間を通して低いレベルで推移した。年齢階級別では1歳以下の割合が全体の54.3%を占めた。全国の手足口病患者から検出されたウイルスは，コクサッキーウイルスA6，次いでコクサッキーウイルスA16の順に多く検出された<sup>3)</sup>。

viii) 伝染性紅斑（図35）

伝染性紅斑は，定点あたり累積報告数が0.69人であり，前年（0.56人）から増加した。全国と同様，年間を通して低いレベルで推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の91.9%を占めた。

ix) 突発性発しん（図36）

突発性発しんは，定点あたり累積報告数が14.11人であり，前年（15.52人）とほぼ同数であった。年間を通して全国とほぼ同レベルで推移した。年齢階級別では1歳以下の割合が全体の85.3%を占めた。

x) ヘルパンギーナ（図37）

ヘルパンギーナは，定点あたり累積報告数が5.44人であり，前年（19.00人）から減少した。岡山県では7月に流行のピーク（第30週，0.50人）があったが，全国と比較して，年間を通して低いレベルで推移した。年齢階級別では1歳以下（48.0%）が最も多く，5歳以下で全体の91.8%を占めていた。全国のヘルパンギーナの患者から検出されたウイルスは，コクサッキーウイルスA6，次いでコクサッキーウイルスA4の順に多く検出された<sup>3)</sup>。

xi) 流行性耳下腺炎（図38）

流行性耳下腺炎は，定点あたり累積報告数が2.24人であり，前年（2.48人）とほぼ同数であった。年間を通して全国とほぼ同様に低いレベルで推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の59.5%を占めた。

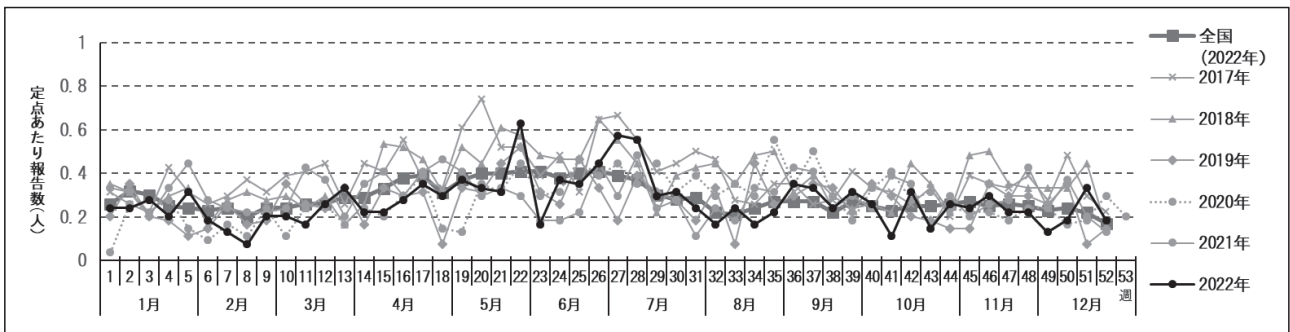


図36 突発性発しん 発生状況

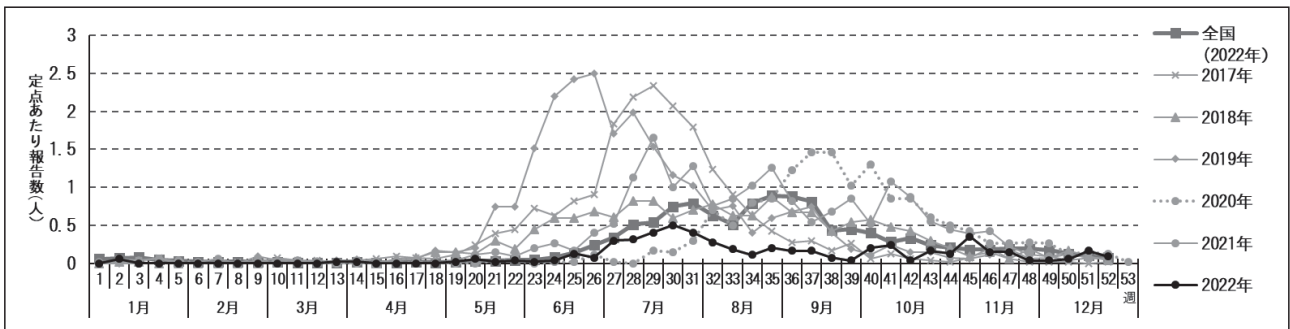


図37 ヘルパンギーナ 発生状況

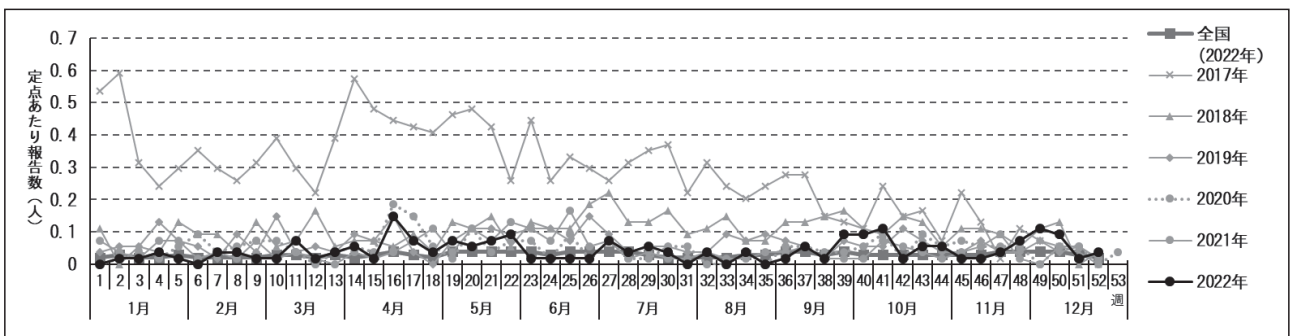


図38 流行性耳下腺炎 発生状況



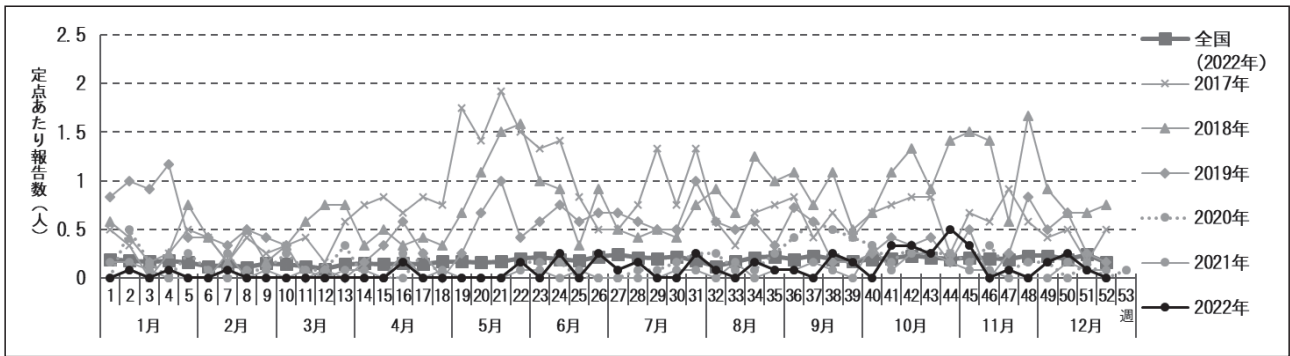


図39 流行性角結膜炎 発生状況

## 2.2.2 眼科定点における週報告の感染症 (表4)

### i) 急性出血性結膜炎

急性出血性結膜炎は、定点あたり累積報告数が0.42人であり、前年(0.25人)から増加した。

### ii) 流行性角結膜炎 (図39)

流行性角結膜炎は、定点あたり累積報告数が4.75人であり、前年(3.92人)から増加した。年齢階級別では、30歳代(22.8%)、20歳代(21.1%)、50歳代(15.8%)で多く報告された。

## 2.2.3 基幹定点における週報告の感染症 (表4)

i) 細菌性髄膜炎(髄膜炎菌肺炎球菌、インフルエンザ菌を原因として同定された場合を除く。)

細菌性髄膜炎は、定点あたり累積報告数が1.80人であり、前年(1.80人)と同じであった。

### ii) 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎は、定点あたり累積報告数が0.60人であり、前年(0.40人)から増加した。

### iii) マイコプラズマ肺炎

マイコプラズマ肺炎は、定点あたり累積報告数が0.80人であり、前年(1.20人)から減少した。

### iv) クラミジア肺炎(オウム病を除く。)

クラミジア肺炎(オウム病を除く。)は、定点あたり累積報告数が0人であり、前年(0人)と同じであった。

v) 感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る。)

感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る。)は、定点あたり累積報告数が0人であり、前年(0.20人)から減少した。

## 2.2.4 性感染症定点における月報告の感染症 (表6, 7)

### i) 性器クラミジア感染症

性器クラミジア感染症は、定点あたり累積報告数が23.06人であり、前年(20.12人)から増加したが、昨年と同様、全国と比較して少ない報告数であった(図40)。性別では男性13.5%、女性86.5%で、女性の割合が高かった。年齢階級別では20歳代が最も多かった(図41)。

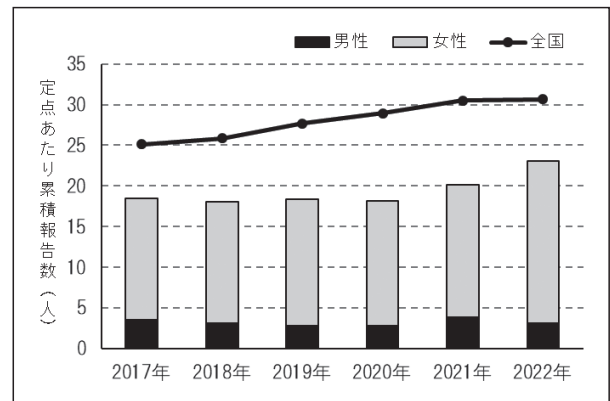


図40 性器クラミジア感染症 年次別発生状況

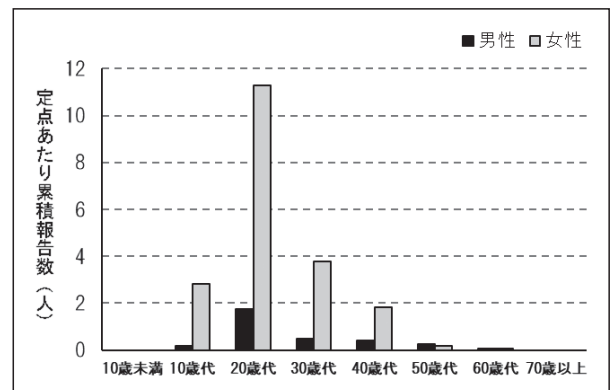


図41 性器クラミジア感染症 年齢階級別発生状況

ii) 性器ヘルペスウイルス感染症

性器ヘルペスウイルス感染症は、定点あたり累積報告数が3.76人で、前年（5.41人）から減少した。全国と比較して少ない報告数であった（図42）。性別では男性4.7%，女性95.3%で、女性の割合が高かった。年齢階級別では20歳代が最も多かった（図43）。

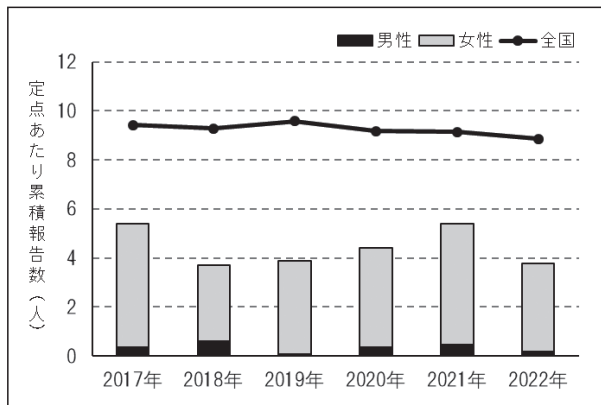


図42 性器ヘルペスウイルス感染症 年次別発生状況

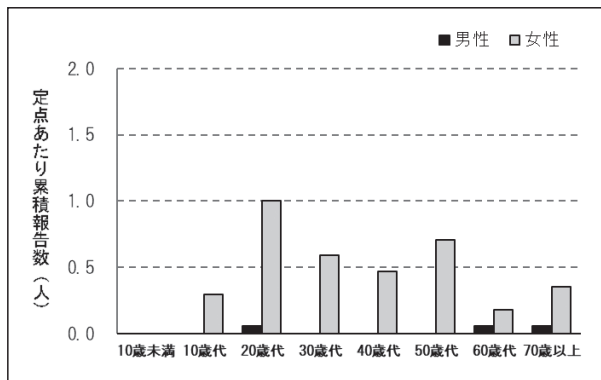


図43 性器ヘルペスウイルス感染症 年齢階級別発生状況

iii) 尖圭コンジローマ感染症

尖圭コンジローマ感染症は、定点あたり累積報告数が2.29人で、前年（2.65人）から減少した。全国と比較して少ない報告数であった（図44）。性別では男性25.6%，女性74.4%で、女性の割合が多かった。年齢階級別では、20歳代が最も多かった（図45）。

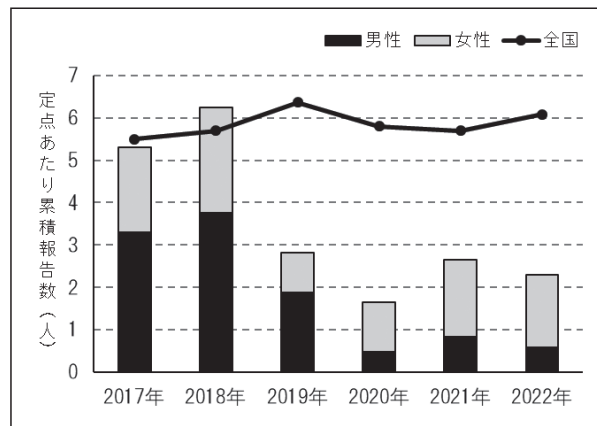


図44 尖圭コンジローマ感染症 年次別発生状況

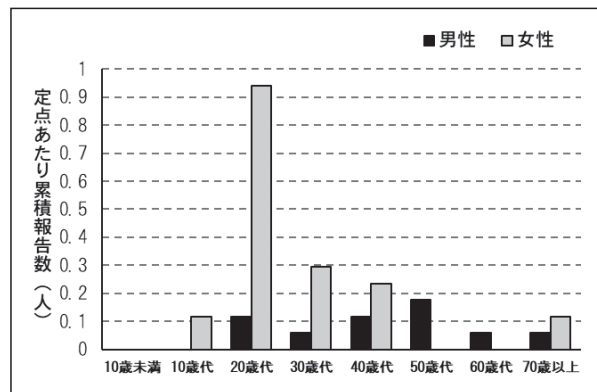


図45 尖圭コンジローマ感染症 年齢階級別発生状況

iv) 淋菌感染症

淋菌感染症は、定点あたり累積報告数が5.82人であり、前年（4.35人）から増加した（図46）。2014年から減少傾向にあったが、2021年は全国と同様に増加に転じ、2022年も増加傾向が継続した。性別は男性22.2%，女性77.8%で、女性の報告数が多かった。年齢階級別では、20歳代が最も多かった（図47）。

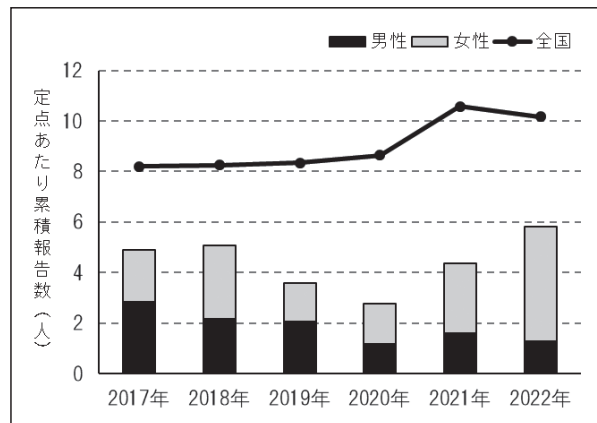


図46 淋菌感染症 年次別発生状況

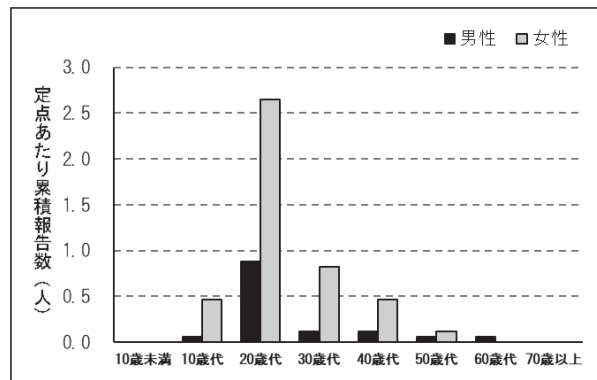


図47 淋菌感染症 年齢階級別発生状況

## 2.2.5 基幹定点における月報告の感染症（表6, 8）

### i) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症は、定点あたり累積報告数が20.40人であり、前年（16.00人）から増加した。年齢階級別では50歳代以上で91.2%を占めていた。

### ii) ペニシリン耐性肺炎球菌感染症

ペニシリン耐性肺炎球菌感染症は、定点あたり累積報告数が0.40人であり、前年（1.40人）から減少した。

### iii) 薬剤耐性緑膿菌感染症

薬剤耐性緑膿菌感染症は、定点あたり累積報告数が0.40人であり、前年（0人）から増加した。

## 3 まとめ

全数把握感染症のうち、結核の届出数は246例であり、2017年から漸減傾向にある。2019年までは300例以上の届出が続いていたが、2022年は過去5年間と比較して最も届出数が少なかった。年齢階級別では、60歳以上の高齢者が全体の63.4%を占めていた。50歳代以下では、20歳代が最も多かった。重症熱性血小板減少症候群は5～6月と、9月に計4例の届出があり、感染症法で全数把握疾患となった、2013年以降で最多となった2020年の7例、2021年の6例に次ぐ届出数であった。つつが虫病は11月（2例）と4月及び12月（各1例）の計4例の届出があった。日本紅斑熱は10月（3例）、5月及び7月（各2例）、8月及び9月（各1例）の計9例の届出があり、2009年の県内初の届出以降最多となった2020年（11例）に次ぐ多さとなった。これらダニが媒介する感染症は近年増加傾向にあり、注意が必要である。レジオネラ症の届出数は47例であり、2021年（57例）から減少した。感染原因・経路は、水系感染が最も多く、うち入浴施設の利用が5例で確認された。梅毒の届出数は197例であり、感染症法が施行された1999年以降で最多の届出数となった。全国の梅毒患者の届出数は2010年以降増加傾向にあり、2022年は1999年以降で最多であった2021年の届出数を大幅に上回る1万3千人を超えた。岡山県は人口100万人あたり報告数が、2022年は8位（2021年は全国4位）の報告数であり、全国の上位を継続している。特に若年女性を中心に今後の発生動向に十分注意する必要がある。

百日咳は2020年、2021年と2年連続で顕著に減少しており、全数把握疾患となった2018年以降で最少となった2021年に次ぐ少ない報告数であった。

定点把握感染症に関して、2021/22年シーズンのインフルエンザは、感染症発生動向調査開始以降のシーズン

（2000/01年シーズン以降）で最も少なかった。岡山県でインフルエンザ注意報の制度が開始された2005/06年シーズン以降で注意報が発令されなかったのは、前シーズンに続いて2シーズン目であった。全国の流行状況とほぼ同様の推移であった。

定点把握感染症のうち、RSウイルス感染症については、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）流行前は、例年流行のピークは9月中旬に見られていたが、2021年は7月に見られ、2022年は8月にピークが見られた。全国も同様に7月にピークが見られた。

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）流行下で感染防止対策の徹底や、外出自粛等の社会活動の変化で飛沫・接触感染が感染経路の中心である感染症は流行がある程度抑制されたが、ダニ媒介感染症や、梅毒を始めとする性的接触が感染経路の中心である性感染症は、社会生活の変化の影響も受けにくく、感染拡大防止に係るアプローチを要するものと考えられる。

前述のとおり、2022年は新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行が継続しており、感染症の発生状況が2020年及び2021年と同様に、例年と異なる様相を示した。一方で、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）による海外渡航にかかる規制の緩和により、デング熱等の海外由来の感染症の報告など、一部の感染症においては新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行前に見られた感染症の発生状況へ戻る兆候があった。

今後も引き続き、岡山県感染症情報センターでは、県内の感染症情報の収集・分析を迅速に行い、全国の感染症発生動向にも注意を払いながら、感染症対策の一助となるよう広く情報発信をしていきたい。

表1 感染症法に基づく届出対象感染症(2022年)

1. 全数把握感染症:全ての医師が、全ての患者発生について届出を行う感染症

<p>【 一類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) エボラ出血熱 (2) クミア・コンゴ出血熱 (3) 痘そう (4) 南米出血熱 (5) ペスト (6) マールブルグ病 (7) ラッサ熱</p>
<p>【 二類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) 急性灰白髄炎 (2) 結核 (3) ジフテリア (4) 重症急性呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 SARS コロナウイルスであるものに限る。) (5) 中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 MERS コロナウイルスであるものに限る。) (6) 鳥インフルエンザ(H5N1)</p> <p>(7) 鳥インフルエンザ(H7N9)</p>
<p>【 三類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) コレラ (2) 細菌性赤痢 (3) 腸管出血性大腸菌感染症 (4) 腸チフス (5) パラチフス</p>
<p>【 四類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) E型肝炎 (2) ウエストナイル熱(ウエストナイル脳炎含む) (3) A型肝炎 (4) エキノコックス症 (5) 黄熱 (6) オウム病 (7) オムスク出血熱</p> <p>(8) 回帰熱 (9) キャサナル森林病 (10) Q熱 (11) 狂犬病 (12) コクシジオイデス症 (13) サル痘 (14) ジカウイルス感染症</p> <p>(15) 重症熱性血小板減少症候群(病原体がフレボウイルス属 SFTS ウイルスであるものに限る。) (16) 腎症候性出血熱 (17) 西部ウマ脳炎</p> <p>(18) ダニ媒介脳炎 (19) 炭疽 (20) チクングニア熱 (21) つつが虫病 (22) デング熱 (23) 東部ウマ脳炎 (24) 鳥インフルエンザ(H5N1 及び H7N9 を除く。) (25) ニパウイルス感染症 (26) 日本紅斑熱 (27) 日本脳炎 (28) ハンタウイルス肺症候群 (29) Bウイルス病</p> <p>(30) 鼻疽 (31) ブルセラ症 (32) ベネズエラウマ脳炎 (33) ヘンドラウイルス感染症 (34) 発しんチフス (35) ボツリヌス症 (36) マラリア</p> <p>(37) 野兎病 (38) ライム病 (39) リッサウイルス感染症 (40) リフトバレー熱 (41) 類鼻疽 (42) レジオネラ症 (43) レプトスピラ症</p> <p>(44) ロッキー山紅斑熱 注(13) サル痘は「エムボックス」へ名称変更(令和5年(2023年)5月26日から)。</p>
<p>【 五類感染症の一部 】 7日以内に届出(侵襲性髄膜炎菌感染症, 風しんおよび麻しんは直ちに届出)</p> <p>(1) アメーバ赤痢 (2) ウイルス性肝炎(E型肝炎及びA型肝炎を除く。) (3) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 (4) 急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く。) (5) 急性脳炎(ウエストナイル脳炎, 西部ウマ脳炎, ダニ媒介脳炎, 東部ウマ脳炎, 日本脳炎, ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。) (6) クリプトスポリジウム症 (7) クロイツフェルト・ヤコブ病 (8) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (9) 後天性免疫不全症候群 (10) ジアルジア症 (11) 侵襲性インフルエンザ菌感染症 (12) 侵襲性髄膜炎菌感染症 (13) 侵襲性肺炎球菌感染症 (14) 水痘(入院例に限る。)</p> <p>(15) 先天性風しん症候群 (16) 梅毒 (17) 播種性クリプトコックス症 (18) 破傷風 (19) パイコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (20) バンコマイシン耐性腸球菌感染症 (21) 百日咳 (22) 風しん (23) 麻しん (24) 薬剤耐性アシネトバクター感染症</p> <p>注(3) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は「カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症」へ名称変更(令和5年(2023年)5月26日から)</p>
<p>【 新型インフルエンザ等感染症 】 直ちに届出</p> <p>新型コロナウイルス感染症(病原体がベータコロナウイルス属のコロナウイルス(令和二年一月に中華人民共和国から世界保健機関に対して、人に伝染する能力を有することが新たに報告されたものに限る。)であるものに限る。)</p> <p>注) 令和3年(2021年)2月13日から施行。それ以前は「指定感染症」。令和5年(2023年)5月8日から定点把握感染症(五類感染症)へ変更。</p>

2. 定点把握感染症(五類感染症):指定した医療機関が、患者の発生について届出を行う感染症

① 週単位報告

<p>【 小児科定点 】</p> <p>(1) RSウイルス感染症 (2) 咽頭結膜熱 (3) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 (4) 感染性胃腸炎 (5) 水痘 (6) 手足口病 (7) 伝染性紅斑 (8) 突発性発しん (9) ヘルパンギーナ (10) 流行性耳下腺炎</p>
<p>【 インフルエンザ定点 】</p> <p>(1) インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く。)</p>
<p>【 眼科定点 】</p> <p>(1) 急性出血性結膜炎 (2) 流行性角結膜炎</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1) 感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る。) (2) クラミジア肺炎(オウム病を除く) (3) 細菌性髄膜炎(髄膜炎菌, 肺炎球菌, インフルエンザ菌を原因として同定された場合を除く。) (4) マイコプラズマ肺炎 (5) 無菌性髄膜炎</p>

② 月単位報告

<p>【 性感染症定点 】</p> <p>(1) 性器クラミジア感染症 (2) 性器ヘルペスウイルス感染症 (3) 尖圭コンジローマ (4) 淋菌感染症</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1) ペニシリン耐性肺炎球菌感染症 (2) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (3) 薬剤耐性緑膿菌感染症</p>

表2 全数把握感染症 月別患者発生状況

2022年

	総数	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
一類感染症	エボラ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	クリミア・コンゴ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	南米出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
二類感染症	マールブルグ病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ラッサ熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	急性灰白髄炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ジフテリア	246	26	14	15	19	18	26	43	13	22	15	22
	重症急性呼吸器症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
三類感染症	中東呼吸器症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鳥インフルエンザ(H5N1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鳥インフルエンザ(H7N9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コレラ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	細菌性赤痢	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	腸管出血性大腸菌感染症	67	3	-	3	1	1	8	17	13	5	4	7
	腸チフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	パラボラチフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E型肝炎	2	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-
	A型肝炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
四類感染症	エキノкокス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	オウムムン	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	オムス出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	回帰熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	キヤサヌル森林病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Q熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	狂犬病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コクシジオリデス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	サカウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	重症熱性血小板減少症候群	4	-	-	-	-	1	2	-	-	1	-	-
	腎臓出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	西部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ダニ媒介脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	炭疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	チクングニア熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
つづが虫熱	4	-	-	-	1	-	-	-	-	-	2	1	
デング熱	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-	
東部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
鳥インフルエンザ(鳥インフルエンザ(H5N1)を除く)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ニパウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
日本脳炎	9	-	-	-	-	2	-	2	1	1	3	-	
日本脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ハンタウイルス肺症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
B型肝炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ブルネズエラウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ヘンドラウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
発しんチフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ポツリチフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
マラリア	2	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	
野兎病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ライム病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
リッサウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
リフトバレー熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
類鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
レジオネラ症	47	1	1	3	1	6	5	5	2	8	8	5	
レプトスピラ症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ロッキーマウンテン紅斑熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
五類感染症	アムニオニチス	10	-	-	2	1	2	1	1	1	1	-	1
	ウイルス性肝炎(E・Aを除く)	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	23	-	-	1	2	2	6	1	2	3	1	4
	急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	急性脳炎	10	1	-	-	-	2	1	1	-	-	1	2
	クリプトスポリジウム症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	クロイツフェルト・ヤコブ病	2	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	5	-	-	-	2	-	-	1	-	1	1	-
	後天性免疫不全症候群	6	-	-	-	1	2	-	-	1	-	-	2
	ジアルジア症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
	侵襲性髄膜炎菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	侵襲性肺炎球菌感染症	22	5	-	1	1	3	2	1	4	-	-	3
	水痘(入院例)	4	-	-	1	1	-	-	-	-	-	1	1
	先天性風しん症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	梅毒	197	17	13	9	9	13	20	27	16	24	11	17
	播種性クリプトコッカス症	3	-	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-
	破傷	3	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1
	バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
百日咳	17	1	-	3	1	3	2	2	1	-	1	2	
風しん	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	
麻疹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
薬剤耐性アシネトバクター感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

\*ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ペネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。



表3 全数把握感染症 年齢別患者発生状況

2022年

		総数	0～9歳	10歳代	20歳代	30歳代	40歳代	50歳代	60歳代	70歳代	80歳代	90歳～
一類感染症	エクボラ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	クリミア・コンゴ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	南米出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヘマールブルグ病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
二類感染症	急性灰白髄炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	結核	246	8	1	45	12	10	14	22	48	45	41
	重症急性呼吸器症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	中東呼吸器症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鳥インフルエンザ(H5N1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
三類感染症	鳥インフルエンザ(H7N9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コレラ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	細菌性赤痢	67	9	10	13	15	5	4	3	5	3	
四類感染症	腸管出血性大腸菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	パラボチフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E型肝炎	2	-	-	-	-	-	1	-	-	1	-
	ウエストナイル熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A型肝炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	エキノコックス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	黄熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	オウムムン病	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	オムスク出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	回帰熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	キヤサヌル森林病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Q熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	狂犬病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コクシジオイデス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	サイルズ感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ジカウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	重症熱性血小板減少症候群	4	-	-	-	-	-	-	2	-	2	-
	腎症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	西部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ダニ媒介脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
炭疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
チクングニア熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
つづが虫病	4	-	-	-	-	-	-	2	1	1	-	
デング熱	3	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	
東部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
五類感染症	鳥インフルエンザ(H5N1を除く)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ニパウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	日本紅斑熱	9	-	-	-	-	-	2	-	4	1	2
	日本脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ハンタウイルス肺症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Bウイルス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ブルセラ症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ベネズエラウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヘンドラウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	発しんチフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ボツリヌス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	マラリア	2	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-
	野兔病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ライム病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
リッサウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
リフトバレー熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
六類感染症	鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	レジオネラ症	47	-	-	-	-	1	5	10	17	12	2
	レプトスピラ症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ロッキーマウンテン紅斑熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	アムール赤痢	10	-	-	-	-	-	4	3	2	1	-
	ウイルス性肝炎(E・Aを除く)	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	23	-	-	1	-	-	2	4	7	7	2
	急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く。)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	急性脳炎	10	8	-	-	-	1	-	-	1	-	-
	クリプトスポリジウム症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	クロイツフェルト・ヤコブ病	2	-	-	-	-	-	-	1	-	1	-
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	5	-	-	-	-	-	-	1	2	1	1
	後天性免疫不全症候群	6	-	-	2	2	1	-	1	-	-	-
	ジアルジア症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
侵襲性髄膜炎菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
侵襲性肺炎球菌感染症	22	4	1	-	2	1	2	5	5	2	-	
水痘(入院例)	4	-	-	1	-	-	1	-	1	-	1	
先天性風しん症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
七類感染症	梅毒	197	-	7	77	36	41	25	10	-	1	-
	播種性クリプトコックス症	3	-	-	-	-	-	-	-	1	2	-
	破傷風	3	-	-	-	-	-	-	1	2	-	-
	バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	百日咳	17	5	-	1	3	1	-	-	4	2	1
	風しん	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
麻しん	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
薬剤耐性アシネトバクター感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

\*ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。

表4 定点把握対象感染症の発生状況

2022年

	インフルエンザ	RSウイルス感染症	咽頭結膜熱	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	感染性胃腸炎	水痘	手足口病	伝染性紅斑	突発性発しん	ヘルパンギーナ	流行性耳下腺炎	急性出血性結膜炎	流行性角結膜炎	細菌性髄膜炎	無菌性髄膜炎	マイコプラズマ肺炎	クラミジア肺炎	（ロタウイルス） 感染性胃腸炎
総数	4.12	24.44	5.89	6.44	218.07	3.61	21.30	0.69	14.11	5.44	2.24	0.42	4.75	1.80	0.60	0.80	0.00	0.00
1週	0.04	0.19	0.26	0.24	6.15	0.13	0.31	0.02	0.24	—	—	0.08	—	—	—	—	—	—
2週	0.01	—	0.09	0.07	6.98	0.19	0.24	—	0.24	0.06	0.02	—	0.08	—	—	—	—	—
3週	0.05	0.11	0.20	0.19	8.56	0.17	0.17	0.02	0.28	—	0.02	—	—	—	—	—	—	—
4週	—	0.43	0.15	0.04	8.17	0.11	0.24	0.02	0.20	—	0.04	—	0.08	—	—	—	—	—
5週	0.04	0.24	0.20	0.06	6.39	0.04	0.37	0.02	0.31	—	0.02	—	—	—	—	—	—	—
6週	0.08	0.06	0.09	0.11	5.72	0.02	0.26	0.02	0.19	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7週	0.02	0.28	0.09	0.04	5.15	0.02	0.04	—	0.13	—	0.04	—	0.08	—	—	—	—	—
8週	0.04	0.24	0.09	0.02	4.54	0.04	0.02	—	0.07	—	0.04	—	—	0.20	—	—	—	—
9週	0.02	0.15	0.04	0.07	3.91	0.02	—	—	0.20	—	0.02	—	—	0.20	—	—	—	—
10週	0.04	0.04	0.11	0.07	3.63	0.07	—	—	0.20	—	0.02	—	—	—	—	—	—	—
11週	0.01	0.11	0.07	0.07	3.37	0.04	0.06	0.02	0.17	—	0.07	—	—	0.20	—	—	—	—
12週	0.01	0.02	0.09	0.15	3.09	0.06	—	0.02	0.26	—	0.02	—	—	—	—	0.40	—	—
13週	0.01	0.04	0.02	0.06	3.06	0.15	0.04	—	0.33	0.02	0.04	—	—	—	—	—	—	—
14週	0.01	0.02	0.02	0.24	3.24	0.11	0.02	—	0.22	0.02	0.06	—	—	—	—	—	—	—
15週	—	—	0.07	0.41	3.15	0.04	0.02	—	0.22	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16週	—	0.04	0.09	0.24	3.87	0.07	0.02	0.02	0.28	—	0.15	—	0.17	—	—	—	—	—
17週	0.02	0.02	0.22	0.07	4.50	0.02	0.07	0.02	0.35	—	0.07	0.08	—	—	—	—	—	—
18週	—	0.04	0.06	0.11	3.78	0.06	0.02	0.02	0.30	—	0.04	—	—	—	—	—	—	—
19週	—	0.04	0.11	0.19	4.74	0.22	0.04	0.04	0.37	0.02	0.07	—	—	0.40	—	—	—	—
20週	—	0.15	0.15	0.17	4.83	0.04	0.09	0.02	0.33	0.06	0.06	0.08	—	—	—	—	—	—
21週	—	0.07	0.13	0.30	5.26	0.07	0.04	0.02	0.31	0.02	0.07	—	—	—	0.20	0.20	—	—
22週	—	0.06	0.35	0.11	5.09	0.09	0.06	0.02	0.63	0.04	0.09	—	0.17	—	—	—	—	—
23週	0.01	0.04	0.19	0.15	4.41	0.07	0.11	—	0.17	0.02	0.02	—	—	—	—	—	—	—
24週	0.02	0.06	0.30	0.15	4.37	0.15	0.09	—	0.37	0.04	0.02	—	0.25	—	—	—	—	—
25週	—	0.13	0.24	0.11	5.35	0.06	0.37	—	0.35	0.13	0.02	—	—	—	—	—	—	—
26週	0.01	0.09	0.39	0.11	5.13	0.11	0.48	0.02	0.44	0.07	0.02	—	0.25	—	—	—	—	—
27週	—	0.20	0.26	0.07	4.72	0.06	0.54	0.02	0.57	0.30	0.07	—	0.08	—	—	—	—	—
28週	0.02	0.81	0.17	0.13	4.37	—	0.44	0.20	0.56	0.31	0.04	—	0.17	—	—	0.20	—	—
29週	0.02	0.81	0.15	0.19	4.26	0.04	0.30	0.06	0.30	0.41	0.06	—	—	0.20	—	—	—	—
30週	—	1.19	0.13	0.07	3.26	0.06	0.44	—	0.31	0.50	0.04	—	—	—	—	—	—	—
31週	0.01	1.78	0.13	0.07	3.39	0.04	0.69	—	0.24	0.41	—	—	0.25	—	0.20	—	—	—
32週	0.01	1.91	0.06	0.04	2.52	0.02	0.63	—	0.17	0.28	0.04	—	0.08	—	—	—	—	—
33週	0.06	1.15	0.13	0.04	2.30	—	0.54	0.02	0.24	0.19	—	—	—	—	—	—	—	—
34週	0.05	1.41	0.15	0.09	2.37	0.02	0.87	—	0.17	0.11	0.04	—	0.17	—	—	—	—	—
35週	—	1.28	0.04	—	2.74	0.07	0.83	0.02	0.22	0.20	—	—	0.08	—	—	—	—	—
36週	0.01	1.35	0.06	0.02	2.52	0.06	0.81	—	0.35	0.17	0.02	—	0.08	—	—	—	—	—
37週	0.02	1.46	0.11	0.11	3.00	0.04	0.80	0.02	0.33	0.17	0.06	—	—	—	—	—	—	—
38週	0.01	1.04	0.07	0.19	2.30	0.02	0.76	—	0.24	0.07	0.02	—	0.25	—	—	—	—	—
39週	0.01	0.89	—	0.13	2.43	0.02	0.70	—	0.31	0.04	0.09	—	0.17	0.20	—	—	—	—
40週	0.02	0.67	—	0.02	2.43	0.13	0.83	—	0.26	0.20	0.09	—	—	—	—	—	—	—
41週	0.08	0.74	0.02	0.02	2.87	0.02	0.80	—	0.11	0.24	0.11	—	0.33	—	—	—	—	—
42週	0.04	0.70	0.04	0.09	2.76	0.07	0.89	—	0.31	0.04	0.02	0.08	0.33	0.20	—	—	—	—
43週	0.04	0.67	0.02	0.09	4.02	0.02	1.04	0.04	0.15	0.17	0.06	—	0.25	—	—	—	—	—
44週	0.01	0.48	0.04	0.09	3.72	0.04	1.00	—	0.26	0.13	0.06	—	0.50	0.20	—	—	—	—
45週	0.11	0.65	0.06	0.13	3.30	0.09	1.00	—	0.24	0.35	0.02	—	0.33	—	—	—	—	—
46週	0.11	0.78	0.07	0.04	3.69	0.09	1.33	—	0.30	0.15	0.02	—	—	—	—	—	—	—
47週	0.14	0.50	0.06	0.17	4.11	0.13	0.52	—	0.22	0.15	0.04	—	0.08	—	—	—	—	—
48週	0.11	0.59	0.06	0.11	4.33	0.04	0.63	—	0.22	0.04	0.07	0.08	—	—	—	—	—	—
49週	0.44	0.28	0.06	0.09	4.46	0.11	0.67	—	0.13	0.04	0.11	—	0.17	—	—	—	—	—
50週	0.42	0.15	0.09	0.37	4.89	0.07	0.28	—	0.19	0.06	0.09	—	0.25	—	—	—	—	—
51週	0.57	0.22	0.07	0.35	5.61	0.17	0.61	—	0.33	0.17	0.02	—	0.08	—	—	—	—	—
52週	1.35	0.11	0.04	0.19	5.30	0.06	0.19	0.02	0.19	0.09	0.04	—	—	—	0.20	—	—	—

表5 週報告 定点把握感染症（小児科定点、インフルエンザ（小児科・内科）定点、眼科定点、基幹定点）年齢階級別患者報告数

2022年

疾患名	年齢区分 小児科 眼科 基	合計	～6か月		～12か月		1歳	2歳	3歳	4歳	5歳	6歳	7歳	8歳	9歳	10～14歳	15～19歳	20～29歳	30～39歳	40～49歳	50～59歳	60～69歳	70～79歳	80歳以上
			合計	～6か月	～12か月	1歳	2歳	3歳	4歳	5歳	6歳	7歳	8歳	9歳	10～14歳	15～19歳	20～29歳	30～39歳	40～49歳	50～59歳	60～69歳	70～79歳	80歳以上	
			合計	0歳	1～4歳	5～9歳	10～14歳	15～19歳	20～24歳	25～29歳	30～34歳	35～39歳	40～44歳	45～49歳	50～54歳	55～59歳	60～64歳	65～69歳	70歳以上					
インフルエンザ	イ	346	3	2	12	9	13	25	15	16	11	5	18	50	38	45	17	26	14	10	4	13		
RSウイルス感染症	小	1,320	214	211	455	228	120	58	18	4	3	2	2	1	-	4								
咽頭結膜熱	小	318	6	31	157	43	36	12	15	7	3	1	2	3	-	2								
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	小	348	11	3	7	24	47	40	54	40	30	16	13	38	4	21								
感染性胃腸炎	小	11,776	115	797	2,093	1,575	1,291	1,040	821	597	429	363	310	951	184	1,210								
水痘	小	195	4	10	25	7	11	22	9	14	13	15	13	44	3	5								
手足口病	小	1,150	7	98	520	224	139	57	35	18	11	11	7	13	1	9								
伝染性紅斑	小	37	-	5	18	2	4	4	-	1	-	1	1	1	-	-								
突発性発しん	小	762	11	218	421	70	23	13	3	2	1	-	-	-	-	-								
ヘルパンギーナ	小	294	6	22	113	64	40	18	7	6	6	1	-	7	-	4								
流行性耳下腺炎	小	121	-	-	6	3	10	13	20	20	12	15	3	19	-	-								
急性出血性結膜炎	眼	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1	3	-	-			
流行性角結膜炎	眼	57	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-	1	1	1	12	13	7	9	6	4			
細菌性髄膜炎	基	9	1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6					
無菌性髄膜炎	基	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2					
マイコプラズマ肺炎	基	4	-	-	-	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1					
クラミジア肺炎	基	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
感染性胃腸炎 (ロタウイルス)	基	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					

表6 月報告 定点把握感染症（性感染症定点、基幹定点）月別、定点あたり報告数

2022年

疾患名		総計	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
性感染症 定点	性器クラミジア 感染症	計	23.06	1.76	1.18	1.59	2.35	2.41	2.29	2.29	1.82	1.94	2.12	1.88	1.41
		男性	3.12	0.24	0.12	0.35	0.29	0.53	0.24	0.12	0.29	0.06	0.41	0.29	0.18
		女性	19.94	1.53	1.06	1.24	2.06	1.88	2.06	2.18	1.53	1.88	1.71	1.59	1.24
	性器ヘルペス ウイルス感染症	計	3.76	0.35	0.29	0.35	0.41	0.29	0.29	0.47	0.18	0.24	0.41	0.29	0.18
		男性	0.18	-	-	-	-	0.06	-	0.06	-	-	0.06	-	-
		女性	3.59	0.35	0.29	0.35	0.41	0.24	0.29	0.41	0.18	0.24	0.35	0.29	0.18
	尖圭 コンジローマ	計	2.29	0.06	0.12	0.24	0.35	0.18	0.12	0.12	0.24	0.12	0.47	0.06	0.24
		男性	0.59	0.06	0.06	-	-	0.06	0.06	-	0.06	0.06	0.06	0.06	0.12
		女性	1.71	-	0.06	0.24	0.35	0.12	0.06	0.12	0.18	0.06	0.41	-	0.12
	淋菌感染症	計	5.82	0.41	0.35	0.53	0.29	0.65	0.94	0.53	0.35	0.47	0.41	0.35	0.53
		男性	1.29	0.12	-	0.18	0.12	0.18	0.24	0.12	0.12	0.06	0.06	-	0.12
		女性	4.53	0.29	0.35	0.35	0.18	0.47	0.71	0.41	0.24	0.41	0.35	0.35	0.41
基幹 定点	メチシリン耐性 黄色ブドウ球菌 感染症	計	20.40	1.00	1.20	1.00	2.40	1.80	2.20	2.00	1.40	2.40	1.40	1.60	2.00
		男性	12.80	0.60	1.20	0.60	1.20	1.20	1.20	1.00	0.60	1.80	1.00	1.00	1.40
		女性	7.60	0.40	-	0.40	1.20	0.60	1.00	1.00	0.80	0.60	0.40	0.60	0.60
	ペニシリン耐性 肺炎球菌感染症	計	0.40	0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-
		男性	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		女性	0.40	0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-
	薬剤耐性 緑膿菌感染症	計	0.40	-	-	-	-	0.20	-	-	0.20	-	-	-	-
		男性	0.40	-	-	-	-	0.20	-	-	0.20	-	-	-	-
		女性	0.00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表7 月報告 定点把握感染症（性感染症定点）年齢階級別患者報告数

2022年

疾患名		0歳	1歳～	5歳～	10歳～	15歳～	20歳～	25歳～	30歳～	35歳～	40歳～	45歳～	50歳～	55歳～	60歳～	65歳～	70歳～	総計
性器クラミジア 感染症	計	—	—	—	7	44	129	93	52	20	23	15	5	2	2	—	—	392
	男性	—	—	—	—	3	19	11	4	4	2	5	2	2	1	—	—	53
	女性	—	—	—	7	41	110	82	48	16	21	10	3	—	1	—	—	339
性器ヘルペス ウイルス感染症	計	—	—	—	1	4	13	5	7	3	5	3	9	3	1	3	7	64
	男性	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	3
	女性	—	—	—	1	4	12	5	7	3	5	3	9	3	1	2	6	61
尖圭コンジローマ	計	—	—	—	—	2	13	5	3	3	3	3	1	2	—	1	3	39
	男性	—	—	—	—	—	1	1	—	1	1	1	1	2	—	1	1	10
	女性	—	—	—	—	2	12	4	3	2	2	2	—	—	—	—	2	29
淋菌感染症	計	—	—	—	2	7	37	23	11	5	4	6	2	1	1	—	—	99
	男性	—	—	—	—	1	8	7	1	1	1	1	—	1	1	—	—	22
	女性	—	—	—	2	6	29	16	10	4	3	5	2	—	—	—	—	77

表8 月報告 定点把握感染症（基幹定点）年齢階級別患者報告数

2022年

疾患名	0歳	1歳～	5歳～	10歳～	15歳～	20歳～	25歳～	30歳～	35歳～	40歳～	45歳～	50歳～	55歳～	60歳～	65歳～	70歳～	総計
メチシリン耐性 黄色ブドウ球菌感染症	—	2	—	—	—	—	—	1	1	1	4	6	5	3	8	71	102
ペニシリン耐性 肺炎球菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	2
薬剤耐性緑膿菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2	2

## 文 献

- 1) 公益財団法人 結核予防会結核研究所 疫学情報センター：年報 2022,  
<https://jata-ekigaku.jp/nenpou/>  
(2023.12.8アクセス)
- 2) 国立感染症研究所：AIDS（後天性免疫不全症候群）とは  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/400-aids-intro.html> (2023.7.31アクセス)
- 3) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/1532-iasrgv.html> (2023.12.8アクセス)

【資料】

# 岡山県における新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の発生状況について （2022年）

COVID-19 Surveillance Reports in Okayama Prefecture (2022)

木下浩行, 北村雅美, 林 隆義, 望月 靖

KINOSHITA Hiroyuki, KITAMURA Masami, HAYASHI Takayoshi, MOCHIZUKI Yasushi

[キーワード：新型コロナウイルス感染症, サーベイランス, クラスター]

[Key words : COVID-19, Epidemiological surveillance, Cluster]

## 1 はじめに

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、2019年12月中華人民共和国湖北省武漢市において確認されて以降、急速に世界的に流行が拡大した。2020年1月30日、世界保健機関（WHO）により「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態（PHEIC）」が宣言され、2020年3月11日にはパンデミック（世界的な大流行）の状態にあるとの表明がなされた<sup>1)</sup>（2023年5月5日宣言解除）。日本国内では2020年1月に初めて感染者が確認され、その後複数回の感染者の大規模な発生を経て、全国的な流行拡大が継続している。当該感染症の「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（平成10年法律第104号。以下「感染症法」という。）による位置づけは、当初、感染症法第14条第1項に基づく疑似症サーベイランスの対象であったが、2020年2月1日に感染症法第6条第8項に基づく指定感染症に指定され、その後、2021年2月13日に新型インフルエンザ等感染症に変更された。2022年9月26日以降は、医師からの感染症法第12条第1項に基づく発生届出の対象が、高齢者（65歳以上）、入院を要する者、重症化リスクがあり治療薬の投与等が必要と医師が判断する者、妊婦へ限定された。しかし、医療機関からの総数（年齢階級別）の報告及び健康フォローアップセンター（岡山県における名称は、当初、陽性者登録センター。2022年11月7日からは、陽性者診断センターに名称変更）への登録により全数把握を継続した。なお、2023年5月8日から五類感染症として定点把握対象となった。岡山県においても流行に関して例外ではなく、国内の大規模な発生時期（波）に概ね合った形で、多くの感染者が発生している。2020年及び2021年の発生状況の概観は既報<sup>2)3)</sup>のとおりであり、ここでは本県の2022年の発生状況を概観する。

## 2 感染症発生動向調査

### 2.1 調査方法

解析に用いたデータは、岡山県のデータについては県の公表資料及びオープンデータの他、厚生労働省のオープンデータを用いた。また、全国のデータは、厚生労働省の公表資料及びオープンデータを用い、解析を行った。

### 2.2 調査期間

2022年1月1日～12月31日とした。県の公表資料及びオープンデータから作成したグラフは公表日を基準とした。なお、厚生労働省の公表資料及びオープンデータについては、上述調査期間に近い期間のデータを用いた。

## 3 結果

### 3.1 月別発生状況

月別の感染者の発生状況について、岡山県は本県のオープンデータ<sup>4)5)</sup>から作成したグラフ（図1）、全国は厚生労働省の公表資料から作成したグラフ（図2、集計対象期間は2022年第1週～第52週（2022年1月3日から2023年1月1日まで））を示す。

岡山県では、2021年8月をピーク（8月の感染者数5,198名）とするいわゆる流行の「第5波」が9月以降に急速に収束し、低い水準で推移していたが、2022年1月に入ると感染が急拡大し、感染者数は第5波のピーク月の約2倍となった（1月10,512名）。2月に入っても感染者数の増加は継続し、第5波のピーク月の約4.3倍となり（2月22,498名）、2月をピークとするいわゆる流行の「第6波」となった。このとき、県内の流行株は第5波で感染の主流であったデルタ株からオミクロン株BA.1系統への置き換えが進んだ<sup>6)</sup>。3月には減少に転じたものの、低い水準まで収束することなく、5月まで推移した（3月14,291名、4月17,419名、5月17,777名）。6月には感染者数が減少したが、第5波のピークと同レベルまでしか収束しなかった。このとき、県内の流行株は2月に初



めて検出されたオミクロン株BA.2系統へ5月にはほぼ置き換わった<sup>6)</sup>。なお、岡山県では、1月27日から3月6日までまん延防止等重点措置が適用された。

7月に入ると感染が急拡大し、感染者数は第6波のピーク月の約1.5倍となった(7月32,676名)。8月に入っても感染の急拡大は継続し、第6波のピーク月の約4.2倍となり(8月94,642名)、8月をピークとするいわゆる流行の「第7波」となった。このとき、県内の流行株はオミクロン株BA.5系統への置き換わりが進んだ<sup>6)</sup>。9月には減少へ転じ、10月も減少したが、低い水準まで収束することなく、第5波のピークを大きく上回って推移した。なお、先述のとおり9月26日から全数把握の方法の

見直しが行われた。

11月に入ると感染が急拡大し、12月の感染者数は8月に次ぐ76,014名となり、いわゆる流行の「第8波」となった。このとき、県内の流行株はオミクロン株BA.5系統の変異株が認められた<sup>6)</sup>。

本県の月別発生状況(図1)は、全国(図2)と同様の推移を示した。各流行波は、変異株の変遷の他、人流の活性化時期や気温により換気されにくい時期(夏、冬)との重なりも見られた。

なお、県内の流行株の変遷の詳細については、本年報の「岡山県におけるSARS-CoV-2の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析調査(2020-2023)」<sup>6)</sup>で報告されている。

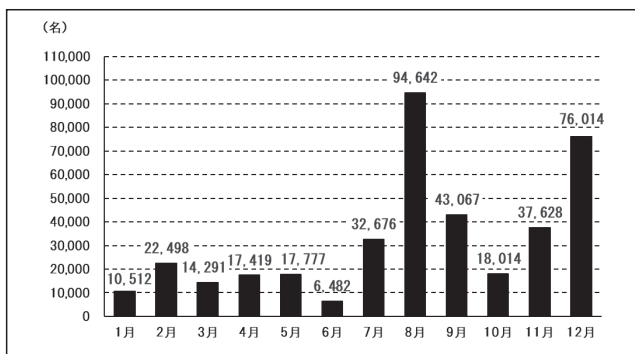


図1 月別発生状況(岡山県)

### 3.2 年齢階級別発生状況

年齢階級別の感染者の発生状況について、岡山県は本県のオープンデータ<sup>4)5)</sup>から作成したグラフ(図3及び4)、全国は厚生労働省オープンデータ<sup>7)8)</sup>から作成したグラフ(図5、集計対象期間は2022年1月5日から2023年1月3日まで)を示す。本県では10歳代、全国では40歳代が最も多かったが、本県、全国共に、10歳未満から40歳代の各年代において、非公表を除く全体割合で

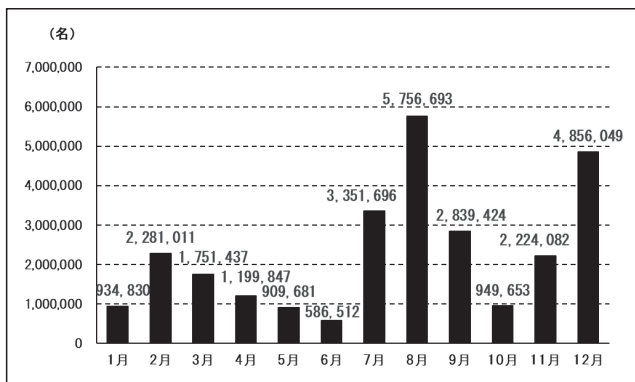


図2 月別発生状況

(全国、2022年第1週~第52週(2022年1月3日~2023年1月1日))

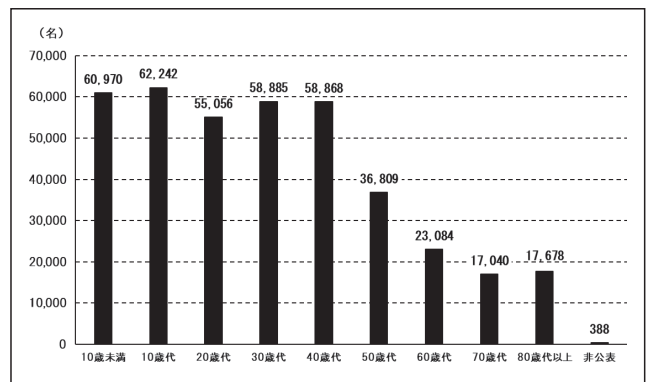


図3 年齢階級別発生状況(岡山県)

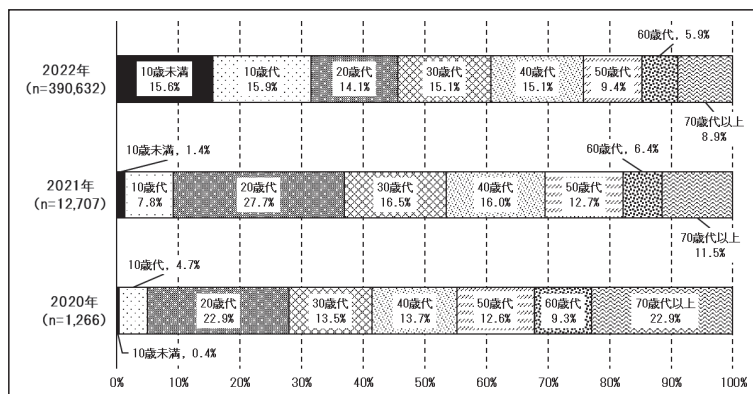


図4 各年の年齢階級別発生割合比較(2020~2022年)(岡山県)

15%前後を概ね均等に占めた。なお、本県、全国共に、2020年及び2021年は20歳代が他の年代と比較して最も多く、10歳未満が少なかったが<sup>2)3)</sup>、各年の感染者数に大きな差があることから、過年との比較には注意を要する。

### 3.3 クラスター種類別発生状況（公表資料より）

本県で発生したクラスターは、施設数では、「高齢者施設」が最も多く、次いで「医療機関」、「社会福祉施設」、「学校・教育機関」の順であった（図6）。

また、クラスター発生施設数は、感染者数の多い8月と12月に多く、週単位では第51週（12/19～12/25）に最も多かった（図7）。なお、9月26日（第39週）からの全数把握方法の見直しで患者情報が限定されたことにより、高齢者施設及び医療機関以外での発生状況の把握が困難となっている。

### 3.4 死亡者

日単位の死亡者の発生状況、及び死亡者数の累積状況について、岡山県は本県の公表資料から作成したグラフ（図8及び9）、全国は厚生労働省オープンデータ<sup>9)10)</sup>から作成したグラフ（図10及び11）を示す。本県、全国共に、死亡者の累計報告数は2021年を大きく上回り、また、発生状況は感染者数の推移に追随した推移を示した。

### 3.5 年齢階級別死亡者割合

年齢階級別の死亡者数について、厚生労働省オープンデータ<sup>11)</sup>を用いて作成したグラフを示す（岡山県：図12、全国：図13。いずれも集計対象期間は2022年1月5日から2023年1月3日まで。年代非公表を除く）。本県の死亡者は、全国と同様、80歳代以上の高齢者に多く認められた。

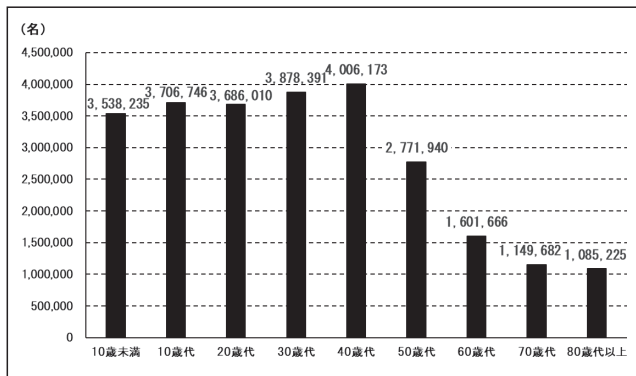


図5 年齢階級別発生状況

（全国、2022年1月5日～2023年1月3日、非公表除く）

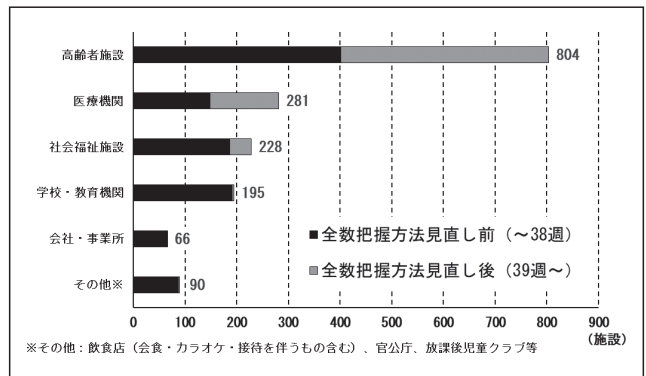


図6 クラスター発生状況（施設数）

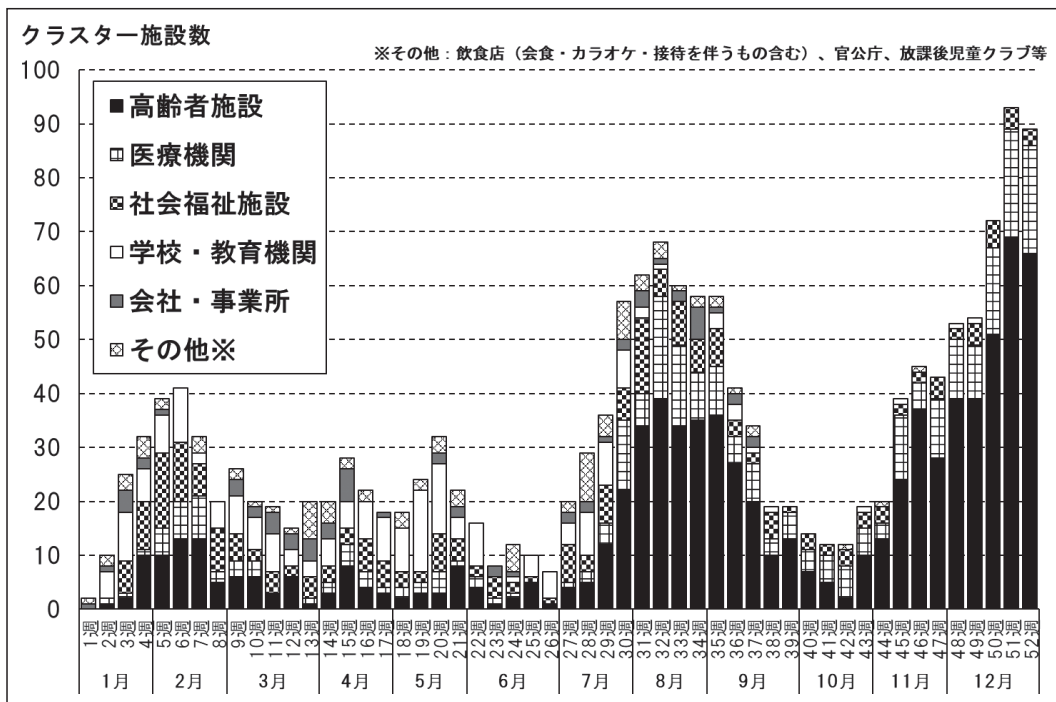


図7 週単位クラスター発生状況（施設数）

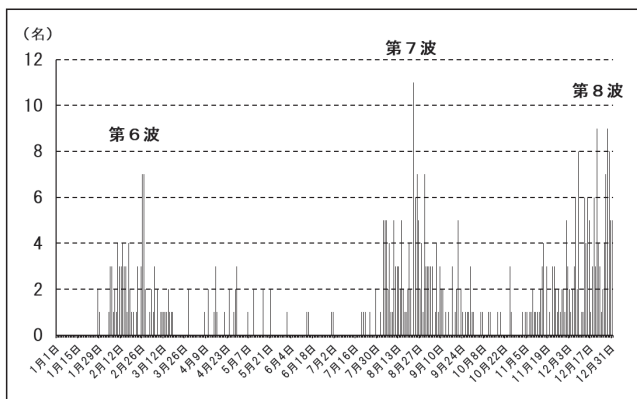


図8 死亡者発生状況（日単位，岡山県）

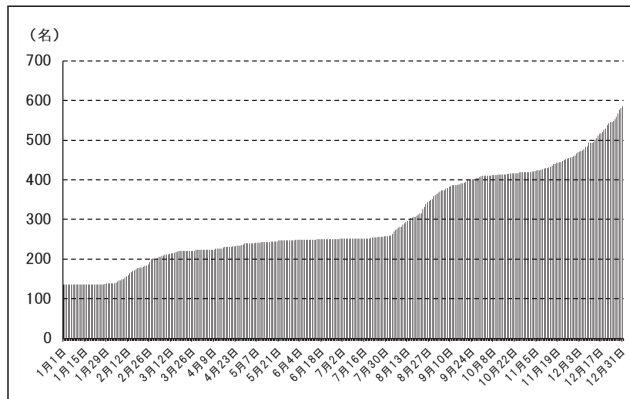


図9 累積死亡者数（岡山県）

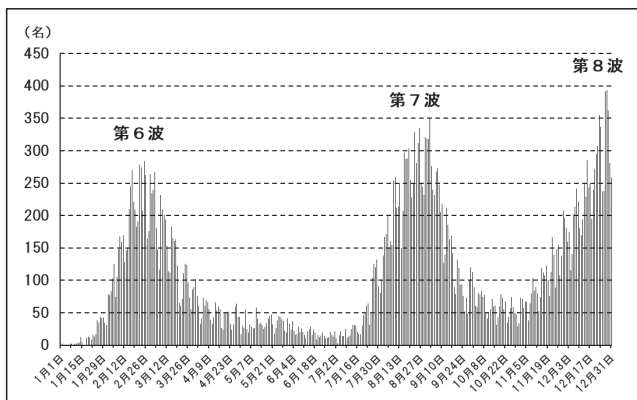


図10 死亡者発生状況（日単位，全国）

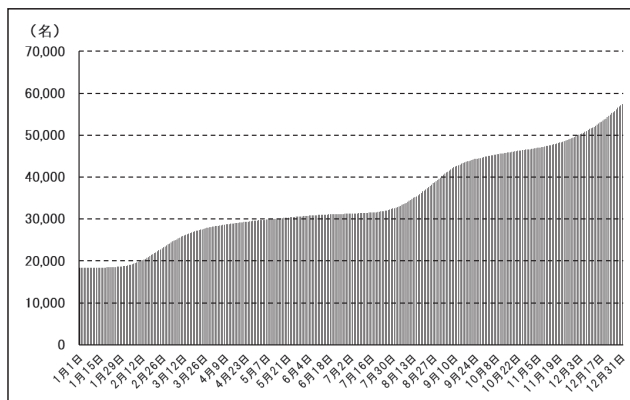


図11 累積死亡者数（全国）

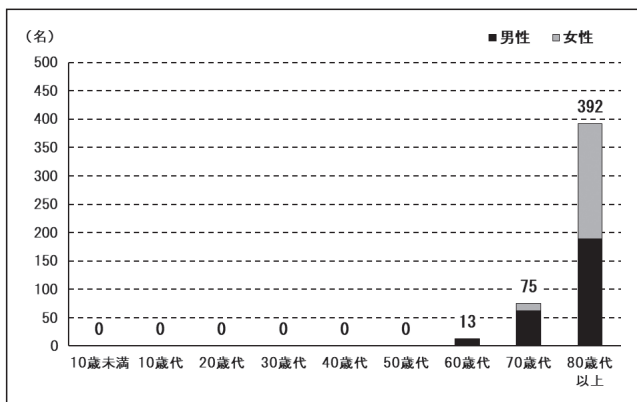


図12 年齢階級別死亡者数

（岡山県、2022年1月5日～2023年1月3日、非公表除く）

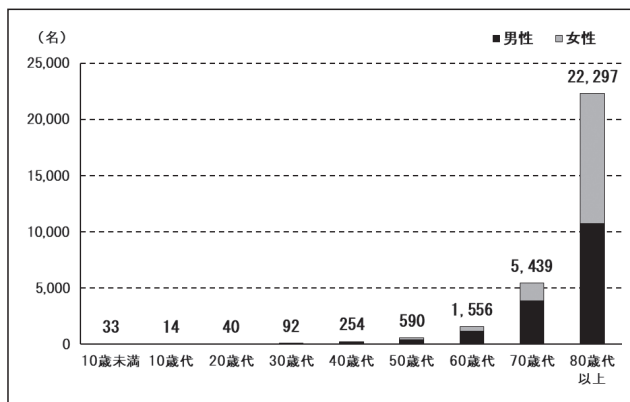


図13 年齢階級別死亡者数

（全国、2022年1月5日～2023年1月3日、非公表除く）

### 3.6 変異株の状況について

本県、全国の2021年以前の変異株の状況については、既報<sup>2)3)12)</sup>のとおりである。

全国の状況として、第6波（2022年1月～6月）では、第5波（2021年7月～9月）の主流であったデルタ株からオミクロン株に置き換わった。オミクロン株は、2021年11月に南アフリカで最初に報告され<sup>13)</sup>、世界的に感染者が急増した。日本では、同月下旬に検疫で初めて確認され<sup>14)</sup>、その後急速に流行が拡大した。この期間の主流の系統は2月頃に全国的にBA.1系統に置き換わり、

その後、BA.2系統に置き換わった<sup>15)</sup>。

第7波（2022年7月～9月）では、2022年2月に南アフリカで報告されたオミクロン株のBA.5系統に置き換わった<sup>16)</sup>。

第8波（2022年10月～）では、10月以降BQ.1系統及びBA.2.75系統の占める割合が上昇傾向にあったが<sup>16)</sup>、感染ピーク時期（2022年12月～2023年1月）の主流は引き続きBA.5系統であった<sup>17)</sup>。

本県においては全国と同様の推移を示し、全国の流行と異なる系統が流行の主流となることはなかった。

## 4 まとめ

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）については、岡山県では2020年3月から感染者が発生し、その後は流行の波ごとに首都圏等の大規模流行に追従する形で県内に感染が拡がり、流行の波が生じていた。2021年は、アルファ株やデルタ株等の従来株よりも感染力が強い変異株の出現により感染が拡大した。2022年に入ってから、更に感染力が強いオミクロン株が流行の主流となり、これまでに経験したことのない急激かつ大規模な3度の流行の波（第6～8波）をみた。各流行波ではオミクロン株の変異が確認された。オミクロン株はデルタ株に比べて相対的に入院や重症化のリスクが低いことが示されている<sup>18)</sup>。しかしながら流行の規模の大きさにより、2022年は2020年及び2021年と比較して高齢者を中心に多くの死亡者が報告された。デルタ株流行期までは、典型的な新型コロナウイルス感染によるウイルス性肺炎によって重篤な呼吸不全を発症する事例が多かったが、2022年のオミクロン株流行期における死亡者は、高齢者施設の利用者が感染し、基礎疾患の悪化等の影響で死亡するなど、新型コロナウイルス感染が直接の死因でない事例も少なくないことが報告されている<sup>18)</sup>。2022年は特に感染の急拡大により感染者数が急増するとともに、医療機関における集団感染の増加等もあり、医療提供体制がひっ迫し、高齢者や重症化リスクが高い方に適切な医療が提供できなくなることが危惧された。2023年も引き続き新たな流行の波がみられている。そのため、基本的な感染防止策（換気、こまめな手洗い・手指消毒、場面に応じたマスク着用等）の徹底、広い年齢層へのワクチン接種の推奨、医療提供体制のひっ迫回避が重要である。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所：IDWR 2021年第39号／注目すべき感染症（直近の新型コロナウイルス感染症の状況），<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/idwr/IDWR2021/idwr2021-39.pdf>（2023.12.21アクセス）
- 2) 北村雅美，木村英治，望月 靖：岡山県における新型コロナウイルス感染症の発生状況について（2020年），岡山県環境保健センター年報，45，95-98，2021
- 3) 北村雅美，木下浩行，林 隆義，望月 靖：岡山県における新型コロナウイルス感染症の発生状況について（2021年），岡山県環境保健センター年報，46，89-93，2022
- 4) おかやまオープンデータカタログ：新型コロナウイルス感染症に関するデータ（岡山県），感染者詳細情報，<https://www.okayama-opendata.jp/resources/10112>（2024.1.23アクセス）
- 5) おかやまオープンデータカタログ：新型コロナウイルス感染症に関するデータ（岡山県），感染者数\_全数届出見直し後，<https://www.okayama-opendata.jp/resources/12566>（2024.1.23アクセス）
- 6) 土本祐栄，岡本尚子，石井 学，池田和美，船橋圭輔ら：岡山県におけるSARS-CoV-2の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析調査（2022-2023），岡山県環境保健センター年報，47，37-42，2023
- 7) 厚生労働省：データからわかる－新型コロナウイルス感染症情報－，性別・年代別新規陽性者数（週別），<https://covid19.mhlw.go.jp/>（2023.12.15アクセス）
- 8) 厚生労働省：データからわかる－新型コロナウイルス感染症情報－，年代別新規陽性者数（週別），<https://covid19.mhlw.go.jp/>（2023.12.15アクセス）
- 9) 厚生労働省：データからわかる－新型コロナウイルス感染症情報－，死亡者数の推移，<https://covid19.mhlw.go.jp/>（2023.12.15アクセス）
- 10) 厚生労働省：データからわかる－新型コロナウイルス感染症情報－，死亡者数（累積），<https://covid19.mhlw.go.jp/>（2023.12.15アクセス）
- 11) 厚生労働省：データからわかる－新型コロナウイルス感染症情報－，性別・年代別死亡者数（累積），<https://covid19.mhlw.go.jp/>（2023.12.15アクセス）
- 12) 土本祐栄，岡本尚子，石井 学，船橋圭輔，長尾和彦ら：岡山県におけるSARS-CoV-2の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析調査（2020-2022），岡山県環境保健センター年報，46，49-51，2022
- 13) 国立感染症研究所：SARS-CoV-2の変異株B.1.1.529系統（オミクロン株）について（第7報），<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/10945-sars-cov-2-b-1-1-529-7.html>（2023.12.18アクセス）
- 14) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症（変異株）の無症状病原体保有者について（空港検疫），[https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_22507.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_22507.html)（2023.12.18アクセス）
- 15) 国立感染症研究所：感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される 新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の変異株について（第18報），<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/11257-covid19-18.html>（2023.12.18アクセス）

- 16) 国立感染症研究所：感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される 新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の変異株について（第27報），  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/12000-sars-cov-2-27.html>（2023.12.18 アクセス）
- 17) 厚生労働省：第114回新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード（令和5年1月17日），資料1, p2,  
<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001039358.pdf>（2023.12.16 アクセス）
- 18) 厚生労働省：第121回新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード（令和5年4月19日），資料1, p5,  
<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001088918.pdf>（2023.12.16 アクセス）



## 他誌発表論文抄録

### フグ食中毒発生時のおう吐物および尿中からのテトロドトキシンの検出

難波順子, 浦山豊弘, 金子英史, 佐藤 淳, 藤本佳恵, 繁田典子

食品衛生学雑誌, 63(6), 225-230, 2022

We experienced a pufferfish poisoning case where no food residue was available to detect a causative agent. However, tetrodotoxin (TTX) was detected in vomit and urine samples from a patient using LC-MS/MS. Furthermore, we found a significant matrix effect in this analysis, indicating that the retention time of vomit and urine was not identical to the TTX standard solution and measured values multiplied by the dilution factors were not constant. Elimination of this matrix effect was attained by dilution of samples based

on the retention time of the TTX standard solution, i.e., 10-time dilution of vomit test sample for LC-MS/MS analysis or 100-200-time dilution of urine one. Further research on urine analytical methods revealed that when TTX concentrations were too low to identify its peak on a chromatogram, TTX could be identified through a dilution procedure. It also showed that the application of the matrix-added TTX standard solution was effective for quantitative analysis under the influence of the matrix.

## 報告書等

### 中国四国ブロックにおける食品由来感染症の病原体解析の手法及び病原体情報の共有に関する研究（令和4年度）

河合央博，梶原知博，岡田達郎 他

（厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

食品由来感染症の病原体解析の手法及び病原体情報の共有に関する研究

令和4年度 分担研究報告書：115-125, 2023

食品由来感染症の広域事例発生時には、各事例由来株の分子疫学解析結果等を各自治体が共有し、病原体分離株の比較・解析によって事例間の関連性を明らかにすることが感染源特定や拡大防止のために有用である。特に、自治体間を跨ぐ同一食品による散発事例の広域的発生時には、分子疫学解析結果等の共有が有用となる。そのためには、地方衛生研究所（以下「地衛研」という。）における病原体分離株の分子疫学解析手法について、解析精度・解析能力の向上・安定化を目的とした精度管理体制の維持・強化が不可欠である。そこで、中国四国ブロック内の地衛研を対象に、腸管出血性大腸菌（以下「EHEC」という。）O26株を用いたパルスフィールドゲル電気泳動法（以下「PFGE法」という。）及びmultiple-locus variable-number tandem-repeat analysis（以下「MLVA

法」という。）の精度管理調査を実施した。その結果、PFGE法では、全ての施設で良好な解析結果が得られ、検査体制の整備及び維持がされていることが確認できた。しかし、MLVA法では、半数の施設でBin設定の不備による誤判定が見られ、技術の改善や習熟等が必要と思われた。この問題を解決するためには、地衛研等全体で基準となるBinセットを共有するなど、どの施設でも正確なBin設定が可能となる体制の構築が必要と考えられた。今後も本研究の精度管理調査を継続し、検査法の問題点等の洗い出しを行い、正確で精度の高い検査体制の維持を支援する必要がある。

本研究により、EHEC分子疫学解析法であるPFGE法及びMLVA法について、中国四国ブロック内の地衛研におけるサーベイランス技術水準の向上に貢献できた。

# ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究 (分担課題) 全国地研ネットワークに基づく食品およびヒトから分離される サルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査

四宮博人, 河合央博, 梶原知博, 岡田達郎 他

(厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業)

令和4年度 分担研究報告書: 9-31, 2023

薬剤耐性菌を制御するためには、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。先行研究班で構築された地方衛生研究所（以下、地研）ネットワークの協力により、ヒト及び食品由来サルモネラ、大腸菌、カンピロバクターについて薬剤耐性状況を調査した。今期（2022年）分離株において、サルモネラに関しては、ヒト由来239株中の73株（30.5%）、及び食品由来132株中の120株（90.9%）が、17剤中の1剤以上に耐性を示した。これらは、2015年～2021年に分離されたヒト由来計2,093株の820株（39.2%）、及び食品由来計855株中の772株の耐性率（90.3%）とそれぞれ近似で、現在の日本の状況を反映していると考えられる。2022年分離のサルモネラについて血清型別の詳細な解析を行ったところ、食品由来株では *S. Schwarzengrund* の占める割合が2015年～2021年よりも高かったが、耐性傾向は大きくは異なっていなかった。一方、ヒト由来株においては血清型別に特徴的な耐性傾向が認められるため、血清型別の耐性率を経年的に比較した。また、ヒト由来株のうち食品からも分離された血清型、*S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* では、2015-2021年分離株と同様にヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。一方、大腸菌については、2022

年分離のヒト由来389株中の136株（35.0%）、及び食品由来35株中の17株（48.6%）が1剤以上に耐性を示し、2015-2021年分離株の結果と近似であった。その他の大腸菌（病原因子陰性株など）は6剤以上の多剤耐性株が多く、下痢原性大腸菌よりも高度の多剤耐性傾向を示した。カンピロバクターについては、2022年分離の *C. jejuni* (194株)と *C. coli* (24株) はともにヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。以上の薬剤感受性検査に加えて、2015-2021年分離のサルモネラと大腸菌を対象に、基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生遺伝子、AmpC 型  $\beta$ -ラクタマーゼ (AmpC) 遺伝子の検出を行った。さらに、2017-2021年分離のサルモネラ株 (1935株) を対象に、研究代表者である国立感染症研究所薬剤耐性研究センターと共同でゲノム解析を進め、18地研の966株（ヒト由来520株、食品由来446株）についてゲノム解析の同意が得られた。さらに、食品由来177株について耐性菌バンクへの提供が同意された。本分担班で取得された薬剤耐性データは、我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」及びWHOのGLASSに提供され、ゲノム解析情報と合わせて食品由来薬剤耐性菌の動向把握や対策に寄与している。

## 学会発表

題 名	学会名	発表者
植物性自然毒であるシキミ中のアニサチンに関する検討	日本食品衛生学会 第118回学術講演会	難波順子, 浦山豊弘*, 金子英史, 佐藤 淳, 藤本佳恵, 繁田典子, 池田壮一*, 石部統久*, 難波泰治*, 浮田琢視*, 繁地 潤*, 森重李南*, 江口実穂*
岡山県における水たまり中の <i>Legionella pneumophila</i> を主としたレジオネラ属菌調査	第27回岡山県保健福祉学会	河合央博
岡山県におけるSARS-CoV-2の次世代シーケンサーによる全ゲノム解析調査(2020-2022)	第27回岡山県保健福祉学会	土本祐栄, 岡本尚子, 石井 学, 船橋圭輔, 池田和美, 濱野雅子, 平田真弓, 鶴海 剛, 木田浩司

\*当センターに所属していない研究者





---

## 岡山県環境保健センター年報 第47号

(令和4年度)

令和6年3月1日発行

編集・発行 岡山県環境保健センター  
〒701-0298 岡山県岡山市南区内尾739-1

TEL 総務課	086-298-2681	企画情報室	086-298-2682
大気科	086-298-2683	水質科	086-298-2684
放射能科	086-298-2685	細菌科	086-298-2686
ウイルス科	086-298-2687	衛生化学科	086-298-2688

FAX 086-298-2088

ホームページ <https://www.pref.okayama.jp/site/712/>

---